Université de Strasbourg — Faculté de Pharmacie

ANNÉE SCOLAIRE 1931-1932 № 83

Contribution à l'étude chimique du Rein

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le.....Juillet 1932

à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

pour obtenir le grade de Docteur de l'Université

(Mention: PHARMACIE)

par

FISZERMAN IDA-HERSZ

Pharmacien

Examinateurs de la Thèse:

MM E. LABORDE, Professeur, Président
F. JADIN, Professeur
E. LOBSTEIN, Professeur } Juges

STRASBOURG
Imprimerie Ch. & J. Goeller, 6c, Place d'Austerlitz
1932

Université de Strasbourg — Faculté de Pharmacie

ANNÉE SCOLAIRE 1931-1932 № 83

Contribution à l'étude chimique du Rein

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le.....Juillet 1932

à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

pour obtenir le grade de Docteur de l'Université

(Mention : PHARMACIE)

par

FISZERMAN IDA-HERSZ

Pharmacien

Examinateurs de la Thèse:

MM E. LABORDE, Professeur, Président
F. JADIN, Professeur
E. LOBSTEIN, Professeur
} Juges

STRASBOURG
Imprimerie Ch. & J. Goeller, 6c, Place d'Austerlitz
1932

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. JADIN, Doyen, O ✻ I ⊍, ⌇
A. SARTORY, Asseseur, C ✻, I ⊍, O ⌇
CUVIER, Secrétaire

PROFESSEURS

MM	JADIN, O ✻, I ⊍, ⌇	Pharmacie chimique
	A. SARTORY, C ✻, I ⊍, O ⌇	Bactériologie
	LAVIALLE, I ⊍, ⌇	Botanique
	LABORDE, ✻, I ⊍	Chimie organique
	VOLMAR, I ⊍	Analyse chimique
	LOBSTEIN, ✻, ❀, I ⊍ . . .	Matière médicale
	GUILLAUME, ✻, ❀, I ⊍ . .	Pharmacie galénique

PROFESSEUR HONORAIRE

M. BRÆMER, ✻, I ⊍, O ⌇ . .

COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.	LABORDE, ✻, I ⊍	Chimie biologique
	GUILLAUME, ✻, ⌇, I ⊍ . .	Zoologie
	VOLMAR, I ⊍, ...	Chimie minérale
	LOBSTEIN, ✻, ❀, I ⊍ . . .	Hydrologie et Hygiène
	BRÆMER, ✻, I ⊍, O ❀ . . .	Législation et Déontologie
	LAPP A., ⊍	Physique
	COLLARD, I ⊍, ❀	Toxicologie
	R. SARTORY	Cryptogamie

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	LAPP A., ⊍	Chimie pharmaceutique
	COLLARD, I ⊍, ❀	Chimie et Physique
	BOHN A., ⊍	Histoire naturelle
	R. SARTORY ⌇	Bactériologie et Parasitologie

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

A NOTRE CHER MAITRE
ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR LABORDE

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Chevalier de la Légion d'honneur

Qui a bien voulu nous proposer le sujet de cette thèse, et nous faire l'honneur d'en accepter la présidence.

Qu'il veuille bien nous permettre de lui adresser tous nos remerciements de ses précieux conseils, de la bienveillance qu'il nous a témoignée.

Qu'il soit assuré de notre profond dévouement et de notre sincère reconnaissance.

A MES JUGES:

MONSIEUR LE PROFESSEUR JADIN

Doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Officier de la Légion d'honneur

Qui nous a fait l'honneur de faire partie du Jury de cette thèse, et qui durant le cours de notre scolarité nous a témoigné un bienveillant intérêt, que nous n'oublions jamais.

Qu'il veuille bien accepter l'expression de notre respectueuse gratitude.

MONSIEUR LE PROFESSEUR LOBSTEIN

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Chevalier de la Légion d'honneur

Hommage de reconnaissance et gratitude pour les encouragements avec bienveillance, et qui a bien voulu faire partie du Jury de notre thèse.

A MONSIEUR LAPP

chargé d'un cours
à la Faculté de Pharmacie
de Strasbourg

A MONSIEUR BONNET

Maître de Conférences
à la Faculté de Sciences
de Strasbourg

Qu'ils trouvent ici l'expression de notre vive gratitude pour l'intérêt qu'ils nous ont témoigné en divers circonstances.

A MA CHÈRE MÈRE ET A MON CHER PÈRE

En gage de ma plus vive affection, et en reconnaissance de tous les sacrifices qu'ils ont consentis pour moi.

A MA CHÈRE FEMME

Vaillante et dévouée compagne de bons comme des mauvais jours.

A MA TANTE RUTH ET ONCLE SAM WEINBERG

A MES ONCLES SAM ET PHILIP FISHER

Pour leur désir constant de me voir embrasser ma carrière.

Hommage de profonde reconnaissance.

A MES BELLES-SOEURS ET BEAUX-FRÈRES

A MES SOEURS ET A MON FRÈRE

A TOUS MES PARENTS ET AMIS

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548008_0037

Introduction

De nombreux physiologistes, chimistes, médecins que se sont occupés de l'étude des préparations opothérapiques du rein ont réuni en faisceau varié de notions sur cet organe.

Cependant les connaissances chimiques sont encore assez incomplètes.

Nous avons donc jugé utile et intéressant de faire une mise au point des renseignements qui ont été publiés jusqu'à ce jour, et de compléter les connaissances d'ordre chimique sur la composition du rein.

Ce travail a été élaboré dans le laboratoire de chimie organique et chimie biologique de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg.

Nos recherches comprennent deux parties principales:

Dans la première partie nous nous occupons de l'opothérapie, de quelques données générales sur le rein et nous rappelons les principaux travaux chimiques exécutés jusqu'à ce jour.

Nos recherches personnelles font l'objet de la deuxième partie.

PREMIERE PARTIE.

Quelques données générales sur le rein.

1° *Histoire du rein comme médicament opothérapique:*

L'utilisation du rein, en opothérapie date des recherches physiologique de Brown-Sequard, de Meyer, de Vitzon, etc. et des recherches cliniques de Dieulafoy, R. Dubois, Renaut etc.

2° *Mode d'action et indications thérapeutiques:*

Son emploi est indiqué aujourd'hui surtout dans l'urémie, dans les intoxications urémiques, dans les néphrites aiguës et chroniques, dans les albuminuries. L'effet diurétique des préparations rénales est très net. (1)

La forme qui prévaut est la poudre de rein ou rénine. L'industrie prépare une forme sèche (dont 1 gr. = 6 gr., de rognons frais du Porc). On l'administre en cachets contenant de 0,25 à 1 gr. dont on prend 2 à 4 par jour.

Il est aussi administré sous forme liquide.

3° *Préparation:*

Les organes provenants surtout du porc, sont soigneusement débarrassés de toute annexe, broyés au moulin. La pulpe obtenue est étaliée en une mince couche sur des cuvettes de porcelaine et séchée dans le vide à une température qui ne dépasse pas 20 à 25°. La pulpe est réduite en poudre et conservée ensuite dans des bocaux en verre.

4° *Sa composition chimique:*

Le rein a été l'objet de quelques travaux d'analyses chimiques dont nous ne citerons que celles qui nous paraissent les plus intéressantes.

(1) Journ. Ph. et Ch. 1927 (8) 5, p. 372.

Quelques brefs renseignements sur l'opothérapie.

L'opothérapie ou organothérapie est le nom générique sous lequel on comprend la Thérapeutique par les produits d'origine animale; c'est une méthode thérapeutique qui a pour objet de suppléer aux insuffisances glandulaires de l'économie, en fournissant au malade les produits que l'organisme ne fabrique plus ou bien qu'il fabrique en quantité déficitaire.

Cette thérapeutique ne représente en réalité qu'une branche particulière de la Chimiothérapie, qui utilise les agents chimiques proprement dits; les produits opothérapiques bien que dérivés de la vie cellulaire, ne sont plus vivants et sont, par conséquent de simples corps chimiques. De fait, un médicament malgré son origine animale, apparaît comme un simple corps chimique et quitte le domaine de l'opothérapie du jour où sa constitution chimique est connue et où l'on peut le préparer synthétiquement, sans recourir à l'organisme pour sa production. C'est ce qui se passe par exemple, pour l'adrénaline, corps chimique retiré des glandes surrénales, mais dont on connait la formule et que l'on prépare par synthèse. Mais l'extrême complexité de la cellule vivante, les mutations incessantes qui s'y produisent, la fragilité des produits de transformations qui s'y élaborent, leur quantité minime et leur activité souvent prodigieuse, sont autant de conditions de leur action, mais autant d'obstacles à leur isolement chimique. La série innombrable des corps, d'anti-corps, de diastases, que l'on découvre dans chaque tissu, montre, d'autre

part, que pour longtemps encore, on ne peut traduire en formules les composants de nos principaux organes.

Le mode d'action des produits opothérapiques est, lui aussi bien spécial. Ce sont des produits souvent spécifiques, agissant électivement sur telle ou telle partie de l'organisme vivant, se comportant thérapeutiquement, comme ils se comportaient chez l'animal dont on les extrait.

Il n'est, d'ailleurs, pas étonnant que les produits animaux naturels ou provoqués, fabriqués par un organisme en vue d'un but fonctionnel précis et avec les ressources infinies de la nature vivante, aient une tout autre portée physiologique et soient tout autrement actifs en Thérapeutique, que le produit chimique artificiel, dont aucune finalité n'explique l'action sur les êtres vivants.

Malgré le nombre immense des travaux accumulés sur l'opothérapie, on a la sensation de n'être encore qu'à l'aube de son développement, et l'on peut facilement prévoir son extension progressive.

Aperçu historique.

L'histoire de l'opothérapie est singulièrement attachante, quant à l'évolution même de l'esprit humain.

Dès les plus antiques civilisations, et sous toutes les latitudes, l'homme chercha, autour de lui, des remèdes pour soulager ses maux: carnivore, il devait s'adresser, d'abord aux produits animaux, et l'alimentation carnée fut, en réalité, sa première opothérapie.

Dès l'origine, on retrouve cette idée simple que les viscères, séparés du corps, conservent une partie

de leurs propriétés et que leur ingestion supplée à l'insuffisance des organes similires. Cette idée a conduit, ausi bien en Chine que dans l'Inde et en Grèce que chez les Arabes, au Moyen Age qu'au Grand Siècle, à l'usage thérapeutique des produits organiques. L'emploi de tous les organes paraît bien avoir été pressenti par les anciens, mais les connaissances incomplètes qu'ils possédaient en anatomie, ne leur ont pas permis d'essayer certaines glandes, telles que: le pancréas, les capsules surrénales, le thymus et le corps thyroïde. Nous ne le voyons donc utiliser que les testicules, les ovaires, le placenta, le cerveau, la moelle et les graisses, le foie, la rate, les poumons, le cœur etc.

Mais en même temps, l'attraction naturelle de l'homme (et surtout de l'homme malade) vers le fantastique et le merveilleux, faisait employer une série de remèdes animaux, dont le caractère, extraordinaire ou répugnant, constituait la seule valeur, et qui par là même, étaient susceptibles de frapper violemment les esprits et d'impressionner, par suggestion les imaginations morbides.

Sous tous les climats et dans tous les âges, l'homme s'est ainsi servi d'excréments et d'animaux immondes: il a absorbé avec la même ferveur, les bouillons des vipères et des scorpions, les fientes de chien, de chauve-souris, de femme enceinte, la momie d'Egypte et la graisse de pendus, les incantations magiques faites au clair de lune, avec les paroles sybillines des Prêtres de Delphes et des Sorcières de Macbeth.

A côté des médicaments physiologiques il y eut, de tous temps, des médicaments psychiques: il n'est pas toujours facile de les distinguer les uns des autres dans les vieilles Pharmacopées.

La méthode organothérapique, très en faveur pendant la Renaissance, tombe en discrédit à la fin du XVIII[e] siècle.

«Le règne animal ne fournit à présent à la pharmacie qu'un petit nombre de substances; sang de bouc, crapauds, poumons de renard, vers de terre, foie de loup, frai de grenouille, sont aujourd'hui très peu en usage, et avec raison... La très ancienne pharmacie faisait entrer dans le Codex des matières médicales beaucoup de substances animales dégoûtantes et qu'on ne peut même nommer sans répugnance. A mesure que les connaissances se sont développées, on les a rejetées; il y en a encore beaucoup qui devraient subir le même sort, mais l'illusion qu'on s'est formée sur leurs vertus, n'est encore suffisamment dissipée.» (2)

A la fin du XVIII[e] siècle l'opothérapie est très en discrédit et elle est pour ainsi dire oubliée du monde médical pendant un siècle. On n'employait plus guère comme remèdes animaux que la cantharide, le castoreum, les yeux d'écrevisse.

Il ne déplait pas à notre tempérament de laisser échapper un sourire à la lecture des documents historiques de ce domaine mais, hâtons-nous de le proclamer, ce sourire ne traduit qu'une facile plaisanterie et exclut toute apparence de moquerie. La Bruyère, ne disait-il pas, que celle-ci est souvent indigence d'esprit? Il suffit de quelques instants de réflexion, pour reconnaître qu'une médication, ayant bénéficié d'une aussi grande faveur depuis l'antiquité jusqu'au XVIII[e] siècle, ne peut pas laisser indifférents ceux qui sont doués du véritable esprit

(2) Baumé. Eléments de pharmacie. 1797, p. 77.

critique et pourvus, par celà même, d'une générosité naturelle à l'égard de leurs précurseurs.

En somme, pourquoi l'opothérapie primitve a-t-elle subi, à si peu de distance de nous, un discrédit momentané?

C'est parce qu'elle répondait à des pratiques les plus souvent empiriques ou basées sur des notions qui n'étaient pas contrôlées; c'est parce qu'elle ne découlait pas d'un système scientifiquement défini. C'est encore parce que le mode de préparation des organes était défectueux, soit qu'il y ait eu destruction ou modification de propriétés sous l'influence de la chaleur, soit que l'absence de stérilisation ait souvent rendu dangereuses les substances ingérés. Aussi s'explique-t-on que de semblables préparations aient été de plus en plus proscrites, au fur et à mesure que s'élargissait le champ de nos connaissances sur les transformations des aliments non stérilisés. Enfin, ajoutons également que les prohibitions sacerdotales ne furent pas étrangères à l'abandon de cette thérapeutique. Et cependant, en étudiant celle-ci avec un peu d'attention, on est frappé par certains détails qui marquent très manifestement la transition avec nos conceptions actuelles: non seulement le choix des animaux s'adapte souvent à nos exigences, mais on retrouve chez certains auteurs la mise en pratique des principes sur lesquels sont aujourd'hui basées nos théories.

Ainsi, tandis que Schröder en 1698 déclare que «les parties des animaux conviennent aux mêmes parties de l'homme», d'autres auteurs affirment qu'elles peuvent aussi s'appliquer au traitement de parties différentes,

N'était-ce pas là une application du principe de la suppléance des organes?

Plus tard, nous lisons dans la Matière médicale de Geoffroy, en 1756, que «les humeurs d'un animal peuvent suppléer à la sécrétion qui ne se fait pas dans celui pour lequel nous empruntons des secours étrangers.» N'était-ce pas encore traduire nettement la notion des sécrétions internes des glandes, notion qui va permettre à Brown-Séquard de réhabiliter l'opothérapie moderne?

En réalité, il serait inexact de prétendre que la médication organique des anciens ait été totalement délaissée. L'emploi du sang de bœuf contre la chlorose, ne s'est-il pas continué jusqu'à nous? La formule d'un sirop de mou de veau ne figurait-elle pas au Codex de 1866? Celle d'un sirop de limaçon n'est-elle pas inscrite dans la Pharmacopée de 1884? Enfin, que dire de l'huile de foie de morue, de préparations de pepsine, de pancréatine, d'hémoglobine, etc...?

La transition reste bien marquée, mais le XIX[e] siècle vit renaître l'opothérapie sur une base scientifique. En 1867 Claude Bernard pose le principe des sécrétions internes.

En 1889, Brown-Séquard publiait le résultat de ses expériences sur l'action thérapeutique de l'extrait testiculaire. L'emploi qu'il fit des injections hypodermiques du suc, extrait aseptiquement et après trituration des testicules des mammifères, contre la neurasthénie, la sénilité etc. Il est conduit à admettre« que chaque tissu, et plus généralement chaque cellule de l'organisme, sécrète pour son propre compte des produits ou des ferments spéciaux qui sont versés dans le sang et qui viennent

influencer, par l'intermédiaire de ce liquide, toutes les autres cellules rendues ainsi solidaires les unes des autres par un mécanisme autre que le système nerveux.» (3)

Ainsi Brown-Séquard en 1889 édifie l'opothérapie en un véritable corps de doctrine, reprenant presque dans les mêmes termes et avec une conception aussi simpliste des choses ce qu'avaient, à l'envie, proclamé tous les peuples anciens, des Hindous aux Chinois, des Grecs et des Latins aux Alchimistes du Moyen Age. Ainsi l'humanité vite oublieuse, découvre-t-elle à nouveau, beaucoup de vieilles choses.

Actuellement, l'organothérapie a récupéré la vogue, consistant à absorber toutes sortes d'organes au hasard et, souvent aussi, avec les mêmes excès que jadis. Mais nos connaissances physiologiques et cliniques, donnent chaque jour davantage, à l'opothérapie, une base rigoureuse et définitive.

L'opothérapie moderne administre à l'organisme défaillant ces sécrétions parmi lesquelles il en est de nutritives, d'excitantes et d'autres modératrices.

Certes il y a encore des préparations opothérapiques dont la preuve de l'action pharmacodynamique ne se base que sur la très ancienne loi du remplacement d'un organe par celui que l'on em-

---

(3) Brown-Séquard: Des effets produits chez l'homme par des injections sous-cutanées d'un liquide retiré des testicules de cobayes et de lapins.

C. R. Soc. Biol. Juin 1889, p. 415.

Brown-Séquard et d'Arsonval C. R. Soc. Biol. avril 1891 t. 43, p. 215.

Canals E. et Coutenceau P. Quelques recherches sur les Poudres d'ovaires. A. F. A. S. Bordeaux 1923.

prunte aux organes homologues d'une autre espèce animale. Mais la science nouvelle de l'endocrinie se développe et étend son domaine.

D'empirique qu'elle était autrefois, l'opothérapie tend de plus en plus, grâce au concours de sciences, comme la physiologie, la biologie, et la chimie organique, à devenir scientifique et rationnelle et à offrir à la thérapeutique des ressources nouvelles et variées.

A côté des organes d'animaux normaux, ou de leurs principes actifs chimiquement isolés, on cherchera, de plus en plus, à utiliser les humeurs d'animaux spécialement préparés, que l'on aura adaptés à une série d'actions physiologiques et de réactions défensives, dont les produits profiteront à l'homme malade et lui épargneront la peine et le temps de le faire lui-même. A côté des propriétés opothérapiques naturelles, il y a donc place pour des propriétés opothérapiques acquises, autrement importantes et autrement puissantes.

La domestication des actions physiologiques et des réactions défensives de l'organisme, telle paraît être le but à atteindre par l'opothérapie perfectionnée que nous entrevoyons.

Telle sera, vraisemblablement, la base de la thérapeutique de demain.

Dans la genèse des idées, l'éclat des découvertes récentes, ne doit pas cependant faire oublier la part du passé: Il n'est pas sans intérêt d'évoquer les vieilles coutumes opothérapiques des civilisations disparues, beaucoup plus proches de nous qu'on ne pourrait le croire,

PRINCIPES CONSTITUANTS DES REINS.

Le parenchyme rénal renferme, de l'eau, des matières albuminoïdes solubles et insolubles, parmi lesquelles la lécithine-albumine et une nucléo-albumine, des matières conjonctives, des graisses, des produits de désassimilation azotés qui indiquent une nutrition très active: leucine, tyrosine, xanthine, hypoxanthine, cystine, taurine, créatine, urée et acide urique; de l'inosite, de la scyllite, de l'oxalate de calcium, de la glucose, des sels minéraux et de l'ammoniaque.

Aaprès lavage avec une solution de chlorure à 0,75%, le tissu du rein renferme d'après Gottwalt (4) les principes immédiats suivants, pour 100 parties.

Composition du tissu renal (Gottwalt).
(pour 100 parties)

Serine	1.116 à 1.394
Globuline (5)	8.633 à 9.225
Matières albuminoïdes solubles dans CO^3Na^2	1.436 à 1.598
Gelatine du tissu conjonctif	0.996 à 1.849
Total	12.181 13.066

(4) Gottwalt. Zeitschrift f. physiol. Ch., t. IV, p. 431, cité par l'Encyclopédie chimique de Fremy, t. IX, IV à VI.

(5) Halliburton (Journ. of physiol., t. XIII et Jahr. f. Thierch. 1892, t. XXII, p. 26), a reconnu que beaucoup de corps décrits avant lui dans le rein, le foie, le cerveau, etc., comme les *globulines*, laissent de la nucleïne comme résidu de leur digestion gastrique, et sont constitués par de la *Nucléo-albumine*.

Il isole cette dernière par deux procédés:

Le rein contient de 82 à 84% d'eau, d'après Frerichs.

Le tissu renal cède à la glycérine certains ferments solubles précipitables par l'alcool et nommé *histozymes*, l'un d'eux possède la propriété de dédoubler l'acide hippurique en acide benzoïque, on a voulu faire jouer un rôle à ces ferments dans la sécrétion de l'élément acide de l'urine dans les canaux contournés et dans l'anse de Henle.

Kossel (6) a retiré du rein 0,068 p. 100 *d'hypoxanthine* qu'il rattache à la nucleïne. D'après Cloetta, les reins du bœuf, exceptionnellement riches

---

1° l'organe dilacéré est délayé et macéré dans du chlorure de sodium concentré, le produit nuqueux obtenu est versé dans un excès d'eau; la nucléo-albumine surnage, tandis que la globuline et les débris de tissus gagnent le fond; c'est ainsi que l'auteur obtient le produit des cellules lymphatiques et du thymus;

2° la pulpe de l'organe est épuisée par macération aqueuse et le liquide, décanté, filtré, est précipité par l'acide acétique. Le précipité obtenu, qui constitue le «Fibrinogène des tissus» de Woldridge, est constitué par un mélange de nucléo-albumine, de lécithine et de traces de mucine; on enlève la lécithine par l'alcool; on prépare ainsi la nécléo-albumine des reins, du foie et du cerveau. Les produits obtenus ne sont pas identiques, particulièrement en ce qui concerne leur teneur en phosphore; ils sont coagulés vers 60°, ne donnent pas la réaction azotique de la xanto-protéose et, par la potasse et le sulfate de cuivre, sont colorés en violet, jamais en rose. Leur solution dans un peu de carbonate de soude, traitée par l'acide azotique, donne un précipité soluble en partie à chaud, mais ne précipite pas par le refroidissement (distinction avec les albumoses).

(6) Kossel Maly's Jahresber., t. XI, p. 108, 1881, et t. XII, p. 102, 1882.

en inosite, lui en ont fourni 1‰ comme d'ailleurs, ceux de l'homme.

La *taurine* extraite des reins par Clœtta n'existe pas dans l'urine où elle passe à l'état d'acide tauro-carbamique.

La *cystine* paraît spéciale au tissu renal ou Clœtta l'a trouvée chez le bœuf.

Virchov en a rencontré une concrétion dans le bassinet.

L'urée, acide urique, l'oxalate de cahux, le glucose n'ont été trouvés dans le rein de mamifères qu'à l'état pathologique.

Gottwalt (7) a trouvé dans le rein des albumines, des matières extractives et des sels minéraux, les premiers existant dans les proportions suivants:

Matières albuminoïdes ..	11,17 à 13,20%
Mucine et collagène	0,99 à 1,85%

Les recherches de Gorup-Besanez sur le même organe lui ont donné:

Eau	78,60%
Albuminoïdes	16,56%
Graisses	3,33%
Matières extractives	0,21%
Sels minéraux	1,31%

(7) Gottwalt, cité par Lepinois, thèse doct. pharm. Paris 1899.

Composition chimique du rein (de mouton)
(d'après Lepinois)

Substances dosées	Pour 100 gr. de tissu	
	frais	sec
Azote total	2,95	13,31
Azote des mat. albuminoïdes . . .	2,16	9,75
Azote extractif	0,79	3,56
Eau	77,80	0
Extrait sec à 105°	22,20	100,0
Sels minéraux	1,18	5,31
Substances organiques	21,02	94,68
Mat. albuminoïdes totales	13,88	62,52
Mat. albuminodes solubles dans l'eau	5,12	23,06
Extrait ethéré (matières grasses) . .	2,34	10,54
Matières extractives	4,90	22,07
Azote dégagé par NaBr O (en urée)	0,16	0,72

Lematte, Boinot et Kahane (8) ont étudié le rein du porc spécialement au point de vue minéral.

Voici leurs résultats:

Composition du rein sèche en %

NaOH	0,463
KOH	1,562
$Ca(OH)^2$	0,047
$Mg(OH)^2$	0,210
SO^4H^2	2,066
PO^4H^3	4,054
HCl	0,935
$Fe(OH)^2$	0,014
Azote	10,120

(8) L. Lematte, Boinot G. et Kahané E. — Dosage des minéraux contenus dans les principaux organes utilisés en opothérapie.

Journ. Ph. et Ch. (8), 1927. — V. p. 325-361.

TENEUR EN PHOSPHORE.

Le phosphore est un constituant fondamental des tissus, il s'y trouve en combinaisons variées qui toutes jouent dans la matière vivante un rôle essentiel. Ces combinaisons sont des phosphates minéraux, des éthers phosphoriques, des phosphatides, de nucléoprotéïdes et d'autres composés moins connus. Javillier (9) et ses élèves ont recherché le phosphore total et le phosphore engagé sous différentes formes dans les tissus animaux et ont établi l'existence effective de plusieurs indices.

I. — *Dosage du phosphore total.*

Ces auteurs se sont servis de la méthode chorosométrique de Copaux (10) qui repose sur le principe que l'acide phosphorique en solution dans l'eau saturée d'éther est fortement acidifié par l'acide sulfurique et mis en présence d'un molybdate alcalin. On obtient alors un dérivé phosphomolybdique, liquide, insoluble et dont le volume pour une température déterminée est proportionnel au poids de P^2O^5 combiné. Ils ont utilisé une ampoule spéciale graduée.

II. — *Dosage de phosphore lipidique.*

Javillier et ses collaborateurs (11) ont soumis la poudre d'organe à une délipoïdation au moyen de

(9) Javillier M., Allaire H. et Mlle Groc. — Sur un principe nouveau pour l'essai des poudres organothérapiques. Journ. Ph. et Chim. (8), 1925. — I. p. 513.

(10) Copaux H. Procédé rapide pour doser l'acide phosphorique. C. R. Acad. Sc. 1921, CLXXIII, p. 656.

(11) Javillier M., Allaire H. et Mme Hinglais-Groc. — L'analyse de poudres organothérapiques, leur teneur en phosphore total, lipidique et nucléïque. Bull. Sc. Pharmacol. 1925, XXXII, p. 641.

l'alcool à 95° dans l'appareil de Kumagawa-Suto ou la matière et le liquide qui la lixivie se trouvent plongés dans la vapeur du solvant. Le résidu de l'extrait alcoolique deshydraté par de l'alcool absolu est repris par de l'éther, puis par du benzène. La liqueur ethéro-benzenique est centrifugée, décantée exactement dans un ballon de Kjeldahl et distillée. Le résidu de la distillation est soumis à la destruction afin d'éliminer la matière organique; la liqueur ainsi obtenus a servi au dosage de phosphore, selon la méthode de Copaux.

III. — *Dosage de Phosphore nucléïque.*

Javillier et Allaire (12) font le dosage de phosphore nucléïque que nous résumons ainsi: la substance à l'état de poudre fine est introduite dans uns fiole spéciale de 200 cm^3 en *verre dépoli* à large ouverture renfermant des billes de verre, puis traité par 75 cm^3 d'un mélange alcool-éther (alcool à 95° = 50 cm^3, éther à 66° = 25 cm^3). On bouche le flacon et on le soumet à un mouvement continu autour de son axe à l'aide d'un dispositif approprié, pendant deux heures. Grâce à ce mouvement et aux chocs multiples des billes de verre, la poudre cède au solvant les lipoïdes, et l'extraction est totale, si, après filtration on répète la même opération. A la fin il reste un liquide renfermant tous les *lipoïdes* et une poudre qui contient le phosphore *nucléïque* et le phosphore *minéral* soluble et insoluble.

La poudre après séparation des lipoïdes est traitée par une solution de chlorure de sodium à 15%, afin de dissoudre les substances nucléïniques. Pour y réussir la poudre est projetée dans 25 cm^3

(12) Javillier M., Allaire H. et Mme Hinglais-Groc. — Bull. Sc. Pharmacol. 1925, XXXII, p. 648.

d'une solution bouillante de chlorure de sodium à 15% contenue dans un vase à précipitation chaudes et maintenue à l'ébullition 10 minutes.

On introduit ensuite la poudre et le liquide dans une fiole jaugée de 50 cm^3 et l'on complète à 50 cm^3 avec de la solution du Chlorure de sodium à 15%. On agite le mélange et on laisse en contact pendant 6 heures en agitant de temps en temps.

On prélève 25 cm^3 du filtrat dans un tube à centrifuger. Au 25 cm^3 de filtrat, on ajoute lentement et en agitant 10 gouttes d'acide chlorhydrique 1 p. 2. Il se forme un précipité contenant les substances nucléïniques, et pour entraîner ce précipité au fond on ajoute quelques gouttes d'une solution d'azotate d'argent à 5% qui, formant un précipité de chlorure d'argent augmente la masse du précipité et facilite la formation d'un dépôt au fond du tube par une centrifugation de 10 minutes.

Le précipité est dissout dans l'acide azotique cencentré. Cette solution est versée en totalité dans un matras de Kjeldahl et soumise à la destruction azotique. L'acide phosphorique obtenu est dosé d'après la méthode de Copaux.

Résultats:

Les auteurs ont expérimenté sur des échantillons de rein de plusieurs animaux: cheval, porc, bœuf, mouton et ont trouvé les résultats suivants:

	Dans 100 parties de poudre sèche			
	P. total	P. lipidique	P. nucléique	P. minérale + p. org. indosé
Rein de cheval . .	1,144	0,475	0,158	0,511
Rein de porc . . .	1,170	0,353	0,251	0,566
Rein de bœuf . . .	1,092	0,392	0,126	0,574
Rein de mouton. .	1,280	0,400		

Commentaires et conclusions.

Comparant ces résultats avec ceux obtenus pour d'autres organes, Javillier prouve que le rein est notablement riche en phosphor total (1 à 1,4%) assez riche en phosphore lipoïdique (0,35 à 0,6%), peu riche en phosphore nucléïque (0,1 à 0,3%).

Mais les chiffres absolus ne sont pas seulement intéressants par eux-mêmes. Les rapports que l'on peut établir entre eux présentent aussi un intérêt, et notamment les rapports qu'ils désignent sous le nom de:

Indice de Phosphore lipidique: c'est la quantité de phosphore lipidique exprimé en mgr. existant dans 100 gr. de tissus.

Puis ils ont établi les rapports $\frac{\text{P. lipidique}}{\text{P. total}} \times 100$

Il en résulte du tableau suivant:

	Rapport $\frac{\text{P. lip.}}{\text{P. tot.}} \times 100$				
Rein de . .	Cheval	Porc	Bœuf	veau	mouton
	41,5	30,1	35,8		31,2

que le rein renferme une fraction de phosphore sous forme lipidique variant de 31,2 à 41,5.

L'indice de Phosphore nucléïque: (13) c'est la quantité de phosphore nucléïque, exprimée en mgr. présente dans 100 gr. de tissu:

son rapport $\frac{\text{P. nucleïque}}{\text{P. total}} \times 100$

(13) Javillier M. et Allaire H. — Sur l'existence d'un indice de phosphore nucléïque de tissus. Bull. soc. Chim. biolog. 1926, VIII, p. 924.

Javillier M., Allaire H. et Mme Hinglais-Groc. — L'analyse des poudres organothérapiques, leur teneur en phosphore total, lipidique et nucléïque. Bull. Sc. Pharmacol. 1925. 32. V. p. 641-659.

Il en résulte du tableau suivant:

	Rapport $\frac{\text{P. nucleïque}}{\text{P. total}} \times 100$				
Rein de . .	Cheval	Porc	Bœuf	Veau	Mouton
	13,8	21,4	11,5		

que le rein renferme une fraction de phosphore sous forme nucléïque variant entre 11,5 à 21,4.

Il va sans dire que ces chiffres ne sont pas absolus, ainsi Javillier a trouvé dans le rein du cheval les différences suivantes, suivant l'âge de l'animal.

	Indices de P. nucleïque rapportés aux organes secs			
Rein de cheval	18 mois	2 ans	15 ans	15 ans
	169	180	158	162

Il n'en reste pas moins vrai que ces indices ont une certaine valeur pour l'identification et le contrôle des poudres opotherapiques.

DEUXIEME PARTIE.

Dans la deuxième partie nous décrirons successivement ce qui a trait aux déterminations générales, aux métaux et métalloïdes; aux lipides, protides et glucides, et aux ferments existants dans notre poudre de rein. Enfin nous donnerons nos conclusions générales.

Détermination du P_H^+ de la poudre de rein.

La concentration en ions H^+ joue un rôle capital dans l'action dédoublante des enzymes. Nous avons donc été amenés à déterminer le Ph de la poudre de rein. Nous avons adopté pour cette recherche la méthode colorimétrique de Sœrensen (1).

Cette méthode est basée sur l'intensité de la coloration communiquée par les indicateurs (phtaléines sulfonées) dans un milieu donné, suivant la valeur du Ph de ce milieu. Cette coloration est comparée à celles d'étalons traités dans les mêmes conditions avec les mêmes indicateurs, et correspondant à un Ph connu. Un indicateur est une substance qui subit un changement de constitution accompagnée d'un changement de couleur par l'influence des variations des ions H^+ dans le milieu où elle est dissoute.

---

(1) Sœrensen. — Etudes enzymatiques C. R. du labor. de Carlsberg, 1909, VII, livraison I.

Guillaumin. — Sur la détermination colorimétrique de la concentration en ions H^+ de liquides biologiques. Journ. Ph. et Ch. 1922, t. XXV, p. 175, 221.

Nous donnerons ci-dessous un tableau de ces indicateurs utilisés par Clark (2) et Lubs qui montrent les limites de leurs virages.

Indicateurs de Clark	Noms chimiques usuels	Virage pour le passage de P_H à P_H	Limites de P_H
Tymolsulfone-phtaléine	Bleu de thymol	rouge-jaune	1,2—2,8
Tetra bromophenol sulfone phtaléine	Bleu de bromophénol	jaune-bleu	2,8—4,6
O-Carboxybenzène azodimethylaniline	Rouge de méthyl	rouge-jaune	4,4—6,0
Dibromo-o-cresol sulfone phtaléine	pourpre de bromocresol	jaune-pourpre	5,2—6,8
Dibromothymol sulfone phtaléine	Bleu du bromothymol	jaune-bleu	6,0—7,6
Phénol sulfone-phtaléine	Rouge de phénol	jaune-rouge	6,8—8,4
Orto-cresol sulfone phtaléine	Rouge de Cresol	jaune-rouge-violet	7,2—8,8
Thymol sulfone-phtaleine	Bleu de Thymol	jaune-bleu	8,0—9,6

Avec ces produits on prépare des solutions colorantes; elles s'obtiennent en dissolvant 0,10 gr. de colorant dans 500 cm^3 d'alcool à 95° et diluant à 800 avec de l'eau bidistillée neutre. Ces solutions s'emploient à 0,5 cm^3 pour 10 cm^3 de liquide en expérience. Ayant à utiliser, pour notre détermination de l'eau distillée à faible conductivité et sensiblement neutre, nous préparons cette eau, selon l'indication de Clark, en partant d'eau distillée; dans un alambic en cuivre distillant une première fois. (Les têtes et les queues de distillation sont rejetées, on chauffe à douce ébullition pour éviter toute projection), en présence d'un mélange oxydant, 5 gouttes d'acide sulfurique pur, et 5 gouttes de solution de bichromate de potassium au 1/10 pour un litre d'eau, dans un appareil en verre dur, et redistillant l'eau obtenue, en présence de

(2) Clark. — The determination of hydrogen ions Wiliams and Wilkins Co. Edit. Baltimore, 1922.

traces de baryte (2—3 décigrammes par litre) dans le même appareil, rincé au préalable.

L'eau tridistillée ainsi obtenue est conservée dans un ballon de verre bien fermé. Si l'eau se charge de CO^2 et devient légèrement acide, on la porte doucement à l'ébullition et on laisse refroidir avant l'utilisation.

Technique de la détermination de Ph.

On place 0,50 gr. de poudre d'organe dans 50 cm^3 d'eau bi-distillée sensiblement neutre (Ph = 6,6) et on ajoute 5 gouttes de toluène et abandonne à l'étuve à 37° pendant 24 heures. On filtre. En même temps, on fait digérer 50 cm^3 d'eau distillée avec 5 gouttes de toluène à l'étuve à 37°. On filtre et on détermine la concentration en ions hydrogène de ces filtrats. A cet effet, on se sert des étalons colorés et salins de composition et de Ph connus.

On détermine d'abord la valeur approximative du Ph par l'indicateur nommé rouge-Congo (composé du phénolphtaléine 10 mgr., rouge Carmin 20 mgr. alcool q. s. pour dissoudre, et eau distillée q. s. pour avoir 100 cm^3.) On introduit dans un tube à essai quelques cm^3 de la solution à examiner, on verse à la surface du liquide une goutte du réactif ronge Congo. On observe la coloration de cette goutte qui se diffuse lentement dans le liquide.

Une coloration bleu indique un Ph^+ = 0,3 à 4.

Une coloration organe indique un Ph^+ = 4 à 8.

Une coloration rouge-carmin indique un Ph^+ = 8 et plus.

Dans nos essais nous avons trouvé que la valeur de Ph est comprise entre 4 et 8 pour les solutions en question.

Entre ces deux couleurs extrêmes, on peut observer toute une série de teintes sensibles, chacune correspondant à une valeur déterminée de PH. Nous déposons dans une série de tubes à essai environ 2 cm^3 du liquide à essayer, et 2 gouttes de chaque colorant. Le premier essai nous permet donc d'arrêter notre choix sur le bromocresol pourpre, et le bromo-thymol bleu. Nous plaçons dans une série de tubes environ 2 cm^3 du liquide à essayer et 2 gouttes du colorant.

Nous comparons la teinte obtenue avec une série de tubes colorés tampons, en s'aidant du comparateur sous forme d'un support maintenant les tubes inclinés à 35°—40° sur un fond horizontal blanc, suivant le tableau ci-dessous.

Direction des rayons lumineux	Etalon du PH supposé au PH du liquide à examiner	Eau distillée neutre	Etalon du PH supposé correspondant au Ph du liquide à examiner
↓	⊙	⊙	○
	Liquide à essayer sans indicateur	liquide à essayer additionné de l'indicateur	liquide à essayer sans indicateur
	○	⊙	⊙

Observateur

En opérant ainsi, nous avons trouvé pour notre échantillon un $P_H = 5,7$ *par conséquent, nettement acide.*

L'eau bidistillée additionnée de toluène était parfaitement neutre c'est-à-dire qu'elle correspondait à un PH^+ de 6,6.

DOSAGE DES MATIERES MINERALES DE LA POUDRE DE REIN.

Dans un travail présenté à la Société de Pharmacie de Paris, MM. Fabre et Penau (3) ont montré l'intérêt que peut présenter l'étude quantitative des cendres de poudres opothérapiques. La méthode préconisée par ces deux auteurs permet de déceler facilement l'addition frauduleuse de substances inertes (talc, carbonate de chaux), ainsi que le salage des organes (4).

Adoptant la technique de ces auteurs, nous avons dosé dans nos échantillons types: l'humidité, les cendres solubles et les cendres insolubles. Sur les cendres, nous avons évalué l'alcalinité, et dans la partie soluble, nous avons dosé le chlorure de sodium.

1° *Humidité.*

Les poudres opothérapiques étant très hygroscopiques il était indispensable de déterminer le cœfficient d'humidité de nos échantillons. Cette teneur en eau fut déterminée sur une prise d'essai de 5 grammes, abandonnée à l'étuve à 105°, jusqu'à poids constant.

Dans un creuset de platine, on introduit 5 gr. de poudre (séchée à 105°); après une première cal-

(3) Fabre et Penau. — Examens chimiques généraux des poudres opothérapiques. J. Pharm. et Chim. 1923, p. 281, XXVII (7).

(4) Le salage des organes pratiqué par les abatteurs leur permet d'emmagasiner et de conserver un certain temps les organes avant de les expédier aux usines des produits opothérapiques. Le salage des organes rend leur dessication difficile, ainsi que la conservation des poudres par suite de leur hydroscopicité plus grands.

cination de 30 minutes, à la lampe à alcool, la masse charbonneuse est traitée par quelques centimètres cubes d'eau, puis soigneusement écrasée. Le creuset est porté au B. M., puis, après départ de l'eau, reporté sur la flamme de la lampe à alcool. Cette seconde calcination est maintenue de même pendant 30 minutes. La masse charbonneuse est reprise par l'eau distillée bouillante. Après décantation, le liquide d'épuisement est filtré sur un filtre sans cendres; on lave le précipité jusqu'à ce que les eaux de lavage ne précipitent plus par l'azotate d'argent. Le charbon est alors entraîné sur le filtre avec les dernières eaux de lavage. Le filtre et le charbon qu'il contient sont mis à sécher à l'étuve à 100°.

2° DOSAGE DES CENDRES.

a) *Cendres solubles.* — Le filtrat et les eaux de lavage sont évaporés à siccité (au B. M.) dans une capsule tarée; les dernières traces d'humidité sont éliminées à l'étuve à 115°. L'augmentation de poids constatée, donne la quantité de cendres solubles renfermées dans la prise d'essai.

b) *Chlorures.* — Le résidu salin est alors repris par environ 100 cm^3 d'eau distillée aiguisée d'acide azotique, employé en plusieurs fois. A cette solution on ajoute 50 cm^3 de solution d'azote d'argent décinormale, en excès et on retitre à l'aide d'une solution de sulfocyanure de potassium décinormale, en présence d'alun de fer, suivant la méthode de Charpentier-Volhard; si N est le nombre de cm^3 employés, (50-N) $\times$ 0,00585 donne la quantité de chlorures évalués en chlorure de sodium contenus dans la prise d'essai.

c) *Cendres insolubles.* — Le filtre provenant du lavage des cendres avec le charbon qu'il renferme, est placé dans une capsule tarée. L'ensemble, après dessication à l'étuve est calciné au moufle jusqu'à l'obtention de cendres blanches. L'augmentation du poids de la capsule donne le poids des cendres insolubles de la prise d'essai.

d) *Alcalinité.* — Sur les cendres insolubles on pratique un dosage d'alcalinité; à cet effet, le résidu est traité par 50 cm^3 d'acide sulfurique N/10; On chauffe quelques minutes au B. M. puis on titre l'acide en excès par une solution décinormale de soude, en présence de phénol-phtaléine (50-N) $\times$ 0,0053 donne en corbonate de soude l'alcalinité des cendres insolubles de la prise d'essai.

Nous avons mieux réussi la détermination de l'alcalinité en remplaçant l'acide décinormal par 5 cm^3 d'acide normal, qui, à cause de la plus grande concentration a mieux attaqué les cendres. Nous avons mesuré très exactement 5 cm^3 de ce même acide et avons procédé un essai à blanc; en titrant avec la soude décinormale. Nous avons tenu compte des chiffres obtenus dans les calculs ultérieurs de l'alaclinité.

Nos résultats % pour l'échantillon de la poudre de rein examinée:

Humidité	Cendres solubles	Chlorures (en chlorure de sodium)	Cendres insolubles	Alcalinité (en carbonate de sodium)
9,1	2,54	0,90 (en acide chlorhydr.) 0,564	2,92	0,45

INTRODUCTION A L'ETUDE DES METAUX.

Les éléments que l'on rencontre dans les cellules végétales et animales peuvent être scindés en deux groupes: ce sont d'abord les matières fondamentales telles que: Protides, glucides, matières grasses, qui, avec l'eau forment la plus grande partie de ces cellules et comptent parmi ceux, auxquels G. Bertrand réserve le nom de *plastiques*, pour bien rappeler leurs combinaisons constituant la masse des tissus.

A côté, certains éléments n'existent qu'en très petites quantités souvent même à l'état de traces, c'est à ces derniers que G. Bertrand réserve le nom «*d'infiniment petits chimiques*», ou éléments catalytiques, nom qui évoque le mode d'action qu'on est conduit à leur attribuer. (Déjà Pasteur avait remarqué que certaines mucédinées se développaient mal sans une toute petite quantité de cendres renfermant de l'acide phosphorique, du potassium et du magnésium. Après lui, Raulin en 1870 mettait en évidence l'influence favorable d'une trace de Zn dans le développement complet d'Aspergillus Niger. Et depuis les recherches expérimentales n'ont pas manqué.)

Jusqu'à une époque relativement récente, il était admis que parmi les corps simples connus, un petit nombre seulement, une douzaine environ entrent d'une façon constante dans la constitution des êtres vivants. C'étaient l'hydrogène, le carbone, l'azote, l'oxygène, le phosphore, le soufre, le chlore, le silicium, le potassium, le sodium, le magnésium et le fer. Les perfectionnements apportés aux méthodes de la chimie analytique, l'utilisation des méthodes

physiques comme l'analyse spectrale, ont permis depuis un certain nombre d'années de déceler dans les cendres des tissus végétaux et animaux, la présence de corps existant en minime quantité, même à doses extraordinairement faibles, qui cependant «constituent des éléments physiologiques aussi nécessaires au métabolisme général tels que le carbone, l'hydrogène, et l'azote», (selon l'expression de G. Bertrand).

Parmi les métalloïdes, le fluor a été trouvé par A. Gautier et Glaussman (1912-1920); dans les végétaux et dans les organes et tissus animaux a de degrés différentes, les travaux de A. Gautier, G. Bertrand, de F. Jadin et Astruc, de Kohn Abrest ont montré que l'arsenic existe normalement chez les êtres vivants. Le bore signalé par Jay en 1895 a été dosé chez les végétaux par Agulhon (1910) et trouvé dans tous les organes animaux par G. Bertrand et Agulhon (1913). Le brome d'après les recherches de Bourcet (1900), Labat (1912), Damiens (1920) est un élément constant de tous les organes de l'homme et des animaux. Parmi les métaux, citons le manganèse dont les travaux de G. Bertrand, Griffiths, Jadin et Astruc (1912-1914), G. Bertrand et Medigreceanu (1912), G. Bertrand et Mme Rosenblatt (1921-1922), Reinmann (1920) ont démontré la présence dans toutes les cendres végétales et dans les organes de l'homme et des animaux.

Le Zinc, trouvé par Forschammer, dans les plantes marines a été décelé et dosé dans de nombreuses cendres végétales par Javillier (1908); les travaux de Lechartier et Bellamy Raoult et Breton, Ghigliotto (1918) Delezenne (1919), G. Bertrand et

Vladesco (1920-1921), Sinichia Giaye (1920), Bodansky (1921), Cristol (1922), ont montré que le zinc existe également dans tous les tissus chez l'homme et les animaux.

Le nickel et le cobalt ont été décelés et dosés chez les végétaux (G. Bertrand et Morkagnatz 1922) Verdansky (1922) et dans les tissus animaux (G. Bertrand et Mechebœuf 1925).

L'étain (Misk 1923) est aussi un élément normal de l'organisme humain.

Le titane a été trouvé dans les plantes (Geilmann, Sandvoïhch 1920) et chez les animaux (Bertrand et Mme Voronca-Spirt 1929-30). Le vanadium, le cerium, le rubidium, le cœsium, le chrome, le molybdène etc... ont été décelés dans les cendres végétales par divers auteurs. Le cuivre a été trouvé dans l'organisme végétal et animal par Guerithault (1927), Maquenne et Demoussy (1920).

De nombreuses expériences ont montré d'une façon décisive que les matières minérales sont indispensables à l'entretien de la vie. Pour une complète démonstration de ces faits, l'analyse chimique des végétaux et des animaux doit être associée à la méthode synthétique: c'est elle qui nous renseigne alors sur l'utilité et le degré d'importance des éléments trouvés. Les travaux entrepris dans cet ordre d'idées sur les éléments fondamentaux par Boussingault, Liebig et Georges Ville ont conduit à l'emploi des engrais dits chimiques.

De même les recherches plus récentes sur le rôle physiologique des composés rares ont élargi considérablement nos connaissances sur certains processus vitaux.

Pour bien montrer l'importance de ces impondérables il n'est pas sans intérêt de rappeler les belles recherches de G. Bertrand sur les oxydases.

Cet auteur étudiant le latex du Rhus succedana, en sépare une substance oxydable le *laccol* et un ferment soluble, la *laccase*. Cette laccase est une diastase oxydante dont les cendres sont relativement riches en manganèse. En fractionnant une solution de laccase on obtient des préparations à teneurs diverses en métal, et il se trouve que l'activité oxydasique est conditionnée par la teneur en maganèse. Bien plus, une laccase sans manganèse devient totalement inactive.

Les beaux travaux de G. Bertrand sur la laccase devaient nécessairement orienter des recherches dans la même voie. La *pectase* ferment coagulant la *pectine* des sucs végétaux, fut par suite étudiée. On a trouvé ici que cette diastase devenait inactive lorqu'on en éliminait le calcium. Au contraire l'addition d'une trace d'un sel de ce métal exalte au contraire son action et permet à la diastase séparée de son calcium de retrouver son activité. Enfin la sucrase, qui dédouble le saccharose en glucose et lévulose aurait un pouvoir hydrolysant en relation avec le magnésium qu'elle renferme.

Ces faits curieux ont conduit G. Bertrand à étudier différents sels de manganèse comme convoyeurs d'oxygène. Leur activité va croissant des sels à acides minéraux aux sels à acides organiques. La *laccase* paraît donc se comporter comme une combinaison organique de manganèse, une sorte de sel de manganèse à acide faible. Ces expériences ont donc bien établi le rôle capital que peut

jouer un élément même à très faible dose, le manganèse dans les phénomènes d'oxydation et la façon d'être de cet élément lui a fait donner le nom d'élément catalytique, dont on a étendu l'appellation aux corps décélés jusqu'ici en petites quantités.

La méthode synthétique nous apprend du reste que le manganèse est utile à la totalité du monde végétal. C'est donc là une confirmation de l'importance du rôle du zinc, joué dans *l'Aspergillus Niger;* l'importance physiologique du zinc apparaît aussi chez les animaux: pour G. Bertrand et Vladesco, ce métal intervient chez les vertébrés dans la fonction de reproduction et sans doute aussi dans le processus de régulation et de sécrétion interne.

D'autre part, Delezenne a montré la richesse des venins en zinc et le rapport entre la teneur en métal et la toxicité.

D'autres recherches ont démontré l'utilité du fer dans la formation de la chlorophylle et comme convoyeur d'oxygène dans le sang; le fer est remplacé par le cuivre chez certains céphalopodes. Il en est de même des travaux de Willstaetter sur la présence de magnésium dans la chlorophylle et de son rôle fort propable comme agent de synthèse dans la formation chlorophyllienne. Les études sur le *laccase* et la *pectase* ont fait admettre cette hypothèse de G. Bertrand: que toutes les diatases qui jouent un rôle aussi considérable dans les phénomènes vitaux, seraient constituées par un complexe organo-minéral, dont l'activité est lié à la quantité d'un métal particulier. Les études synthétiques sur les éléments rares qui jusqu'ici avaient été jugées impossibles à réaliser chez les orga-

nismes supérieurs ont été tentées avec succès par G. Bertrand qui, a montré l'importance physiologique du zinc en expérimentant chez la souris. Ces faits ont trouvé leur application dans l'étude des végétaux et surtout de quelques micro-organismes, lesquels se prêtent à une étude précise de ce problème.

Les résultats de ces expériences intéressent au plus haut point l'agronomie. On a pu en effet, avec quelques millièmes de manganèse accroître certaines récoltes de 20, quelquefois de 40% (5). Ainsi un développement nouveau de la chimie agricole a pris naissance et déjà imposé les engrais catalytiques, adjuvants nécessaires des engrais chimiques. Mais la recherche et le dosage des «infiniments petits chimiques» ne présente pas seulement un intérêt théorique; la toxicologie et la thérapeutique ont aussi bénéficié grandemant des résultats acquis par ces recherches.

La connaissance de l'arsenic normal dans les tissus humains permet à l'expert de rejeter l'intoxication médicamenteuse ou criminelle lorsque la quantité trouvée n'atteint pas un certain chiffre.

Enfin tout récemment le nickel et le cobalt ont pris rang en thérapeutique, grâce aux recherches de G. Bertrand et Machebœuf, qui ont montré la richesse en nickel du foie, du pancréas et de l'insuline et les auteurs ont songé à la possibilité d'améliorer les préparations insuliniennes par l'addition de ces deux métaux.

---

(5) Cité par Guérithault. — Recherche sur la présence de cuivre dans les végétaux et dans l'organisme humain à l'état normal et pathologique (cancer). Th. doct. Pharm., Paris 1927.

Ceux-ci régularisent l'action de l'insuline et la rendent plus durable. Bien mieux la simple ingestion de très petites doses de nickel et de cobalt permet même d'obtenir une amélioration très nette dans certains cas de diabète (G. Bertrand et Rathery (6). A la suite de recherches initiales de G. Bertrand beaucoup de travaux dans cet ordre d'idées ont été entrepris et sont encore en cours d'étude.

N'y a-t-il par lieu de se demander si chez les êtres supérieurs l'exercice normal de fonctions vitales, n'est pas dû aussi à la présence d'éléments de même ordre que le zinc pour l'Aspergillus, et que le manganèse pour la laccase etc? Lorsqu'on trouve dans l'organisme des traces d'arsenic, de nickel, de cobalt ou même de cœsium que révèle seule l'analyse spectrale n'est-on pas en droit de supposer que ces corps ont un rôle biologique important peut-être égal à celui du chlore ou du sodium?

Tous ces faits montrent bien l'importance qui s'attache à l'étude des infiniments petits chimiques et il y a lieu de n'en négliger aucun, bien qu'il n'y existe qu'à l'état de traces.

(6) G. Bertrand et Rathery. Cité par Guerithault, l. c.

RECHERCHES QUALITATIVES.

Analyse Spectroscopique.

L'analyse spectroscopique faite avec des électrodes en charbon purifié, ayant permis de constater la présence des métaux suivants:

1. Sodium
2. Potassium
3. Calcium
4. Magnésium
5. Manganèse
6. Fer
7. Cuivre
8. Zinc
9. Nickel
10. Cobalt
11. Arsenic
12. Titane

Nous avons procédé au dosage de ces métaux.

RECHERCHES QUANTITATIVES.

Destruction de la matière organique.

L'analyse des minéraux faite sur les cendres est entachée de plusieurs causes d'erreurs graves:

Calcination. — Ce procédé qui paraît relativement simple doit être abandonné pour plusieurs raisons:

1° *Perte de soufre et de phosphore.*

Après avoir séché la prise d'essai, beaucoup d'auteurs calcinent directement la substance dans un creuset. On dose ensuite le soufre et le phosphore sur les cendres: tout le soufre lié à l'azote ainsi qu'une partie du phosphore ont disparu. Donc les chiffres donnés pour la teneur en soufre et en phosphore des organes et des aliments sont inexacts.

2° *Perte des autres minéraux.*

En chauffant la pulpe ou la poudre d'organe dans un creuset, les graisses, puis les albuminoïdes brûlent. Des points de surchauffe apparaissent et il est à peu près impossible d'éviter les projections de fines parcelles de matière. En favorisant la destruction du charbon par un oxydant comme l'acide nitrique, on remarque très souvent au point de chûte de la goutte d'acide, une inflammation brusque du charbon; cette manipulation est encore une cause de perte. Pour le dosage de la chaux et de la magnésie par calcination dans un creuset de quartz, il se forme entre ces oxydes et la silice du creuset des composés insolubles qui faussent complètement les résultats.

Nous avons donc fait nos destructions de matières organiques en milieu liquide, afin d'éviter autant que possible les causes d'erreurs signalées plus haut.

DESTRUCTION EN MILIEU LIQUIDE DES MATIERES ORGANIQUES.

Lematte, Boinot et Kahané E. (7) ont utilisé pour la destruction des matières organiques deux procédés: le premier consiste dans l'emploi d'un mélange d'acide azotique et d'acide perchlorique. Dans le deuxième procédé, ces auteurs se servent d'un mélange d'acide sulfurique et d'acide perchlorique. Voici la description de ces deux procédés:

(7) Lematte L., Boinot G. et Kahané E. — Journ. Pharm. et Chim. (8), Série 5, 1927. P. 333.

1° Destruction par le mélange d'acide azotique et d'acide perchlorique.

Un gramme d'organe est introduit dans un ballon en Pyrex de 250 cm^3 dans lequel on a mis 10 cm^3 du mélange suivant:

Acide azotique fumant	(d. 1,49)	100 cm^3
Acide perchlorique	(d. 1,615)....	50 cm^3
Eau distillée		100 cm^3

Le mélange étant chauffé avec précaution, la substance se dissout rapidement. On chauffe jusqu'à ce que la solution devient incolore. L'opération est alors terminée; elle exige dix à quinze minutes.

Nous avons obtenu des meilleurs résultats au point de vue de la sécurité et de la rapiditié, en faisant macérer nos 5 gr. de poudre de rein dans 50 cm^3 du mélange acide, pendant 5 minutes, à froid. Après avoir chauffé quelques minutes, le mélange mousse fortement. On cesse de chauffer; la mousse tombe. On peut alors chauffer fortement jusqu'à décoloration du liquide. Toute cette opération dure 40-45 minutes, on évapore à sec pour éliminer l'excès d'acide libre, on étend avec l'eau à volume déterminé.

Remarque. — Il est indispensable d'opérer comme nous venons de l'indiquer. En effet, l'addition du mélange acide à la poudre suivi d'addition d'eau peut provoquer une inflammation et même une explosion.

2° Destruction par le mélange d'acide sulfurique et d'acide perchlorique.

Principe: Par l'emploi d'un mélange en proportions convenables d'acide sulfurique et d'acide perchlorique, le carbone est détruit, le phosphore est oxydé, l'azote est fransformé en ammoniaque.

Mode opératoire: Dans un ballon de Kjeldahl en Pyrex de 250 cm^3, introduire 50 cm^3 d'un mélange fait dans les proportions de:

Acide sulfurique à 66° ..... 350 cm^3

Acide perchlorique pur (d. 1,815) 650 cm^3

Introduire quelques billes de verre dans le fond du ballon pour régulariser l'ébullition.

Peser 10 gr. de poudre d'organes, les diviser en 5 parties de 2 gr. environ; ajouter une prise au mélange oxydant; chauffer au bain de sable lentement jusqu'à désagrégation. La masse noircit et mousse. Laisser refroidir 2 minutes, ajouter une deuxième prise: répéter les mêmes opérations jusqu'à ce que les 10 gr. soient introduits. A partir de ce moment chauffer à feu nu avec un bec Bunsen.

La liqueur noire se décolore peu à peu et devient tout à fait limpide. Continuer à chauffer jusqu'à l'apparition des vapeurs blanches d'acide sulfurique.

Ce résultat est obtenu selon la nature des organes dans un temps variant entre 30 et 60 minutes. En suivant cette technique, l'emploi de l'acide perchlorique est sans danger.

Remarque:

Dans nos essais nous avons constaté qu'il était inutile d'introduire par portions l'organe analysé et qu'on pouvait atteindre le même résultat que celui indiqué par les auteurs de la méthode, en faisant macérer pendant 5 minutes la totalité de la prise d'essai dans le mélange acide. Ensuite on continue le chauffage et les opérations suivantes comme ci-dessus.

DOSAGE DU SODIUM.

Pour le dosage de très petites quantités de sodium en biologie on utilise deux réactions également intéressantes. La première repose sur la formation d'un composé insoluble obtenu à l'aide du Pyroantimoniate de potasse et des sels de sodium. La seconde a été découverte par Streng (8) et a été appliquée à une méthode pondérale par Blanchetière (9); elle consiste à former un acétate *triple* d'uranium, de magnésium et de sodium.

$3\,(C^2H^3O^2)^2UO^2, (C^2H^3O^2)^2Mg, (C^2H^3O^2)Na, 9H^2O$

qui est insoluble dans le milieu où il se forme et dans l'alcool à 95°; par contre l'alcool dissout parfaitement les acétates d'uranyle et de magnésium du réactif.

Nous nous sommes décidé pour la méthode de Blanchetière. Elle a été discutée dans de nombreux travaux et en particulier dans ceux de Laudat (10) de Grabar (11) et de Kahané (12); ces auteurs se sont attaché à démontrer les grandes erreurs qui peuvent se produire au cours d'une exécution défectueuse de la technique prescrite. Mais il y a lieu

---

(8) Streng. — Ueber die Ausführung einiger microchemischer Reaktionen. Zeitschr. f. analyt. Chemie 1885, XXIII, p. 115, et Chem. Centralbl. 1886, p. 488.

(9) Blanchetière A. — Sur une méthode de dosage du sodium. Bull. Soc. Chim. 1923, XXXIII, p. 807.

(10) Laudat M. — Etude des méthodes récentes de dosage du sodium et de leur application à la biologie. Bull. Soc. Chim. Biol. 1928, X, p. 757.

(11) Grabar P. — Microméthode de dosage du sodium dans les milieux biologiques. Bull. Soc. Chim. biol. 1929, p. 58, XI.

(12) Kahané F. — Le dosage du sodium par la méthode à l'uranyle. Bull. Soc. Chim. de France 1930, XLVII, p. 193 et 382.

de faire observer que la présence des métaux autres que le sodium dans les cendres ne trouble pas le dosage. L'acide phosphorique seul est un élément perturbateur, on doit donc l'éliminer.

Il faut au préalable détruire les matières organiques. Nous avons employé pour ce but le mélange oxydant d'acide azotique fumant, d'acide perchlorique et l'eau distillée (13).

On chauffe avec précaution jusqu'à ce que la solution devienne incolore. On évapore l'excès d'acide et on neutralise alors avec de l'ammoniaque et on chauffe au B. M. On filtre le précipité (constitué par les oxydes hydratés de métaux lourds) on le lave avec de l'eau soigneusement, ensuite on porte la solution à 25 cm^3 dans un flacon jaugé.

20 cm^3 de cette liqueur sont centrifugés; on précipite l'acide phosphorique par un excès connu de liqueur acétique d'acétate d'urane, que l'on mélange et abandonne jusqu'à floculation nette. A ce moment, on centrifuge de nouveau; on prélève une fraction aliquote et on l'introduit dans 10 fois son volume de réactif urano-magnésien. On laisse reposer. On filtre et lave le précipité comme l'ont indiqué les différents auteurs mentionnés ci-dessus. On dessèche à l'étuve à 110°, laisse refroidir et pèse. 1 gr. de précipité correspond à 0,015 gr. de sodium. *Nous avons ainsi trouvé* 0,95 *gr. de sodium dans* 100 *gr. de poudre de rein étudiée, ou* 1,28% *gr. exprimés en oxyde de sodium* (Na^2O).

(13) Lematte L., Boinot G. et Kahané E., l. c.

DOSAGE DU POTASSIUM.

Pour le potassium nous nous sommes servi du procédé de Garola et Braun (14) qui consiste essentiellement à faire agir le cobaltinitrite de sodium sur la potasse, ce qui donne du cobaltinitrite de potassium.

Après la destruction de la matière organique, nous avons évaporé l'excès d'acide; la solution parfaitement limpide est traitée par le carbonate de sodium, pour précipiter les autres métaux. Le filtrat est concentré à petit volume autant que possible, acidifié légèrement par l'acide acétique et additionné d'un excès de réactif de nitrite cobalti-sodique. Le mode opératoire est très important pour assurer la fixité de la composition du précipité. Ce dernier répond à la formule: K, Na, Co, $6NO^2$, H^2O. Le précipité est laissé au repos 12 heures en vase bien bouché, ensuite nous avons filtré dans un creuset taré de Gooch.

Le précipité est lavé avec de l'eau distillée additionnée de 10% d'acide acétique jusqu'à ce que le liquide passe parfaitement incolore, ensuite par de l'alcool à 95° afin d'enlever l'eau et de faciliter la dessication. Le creuset est desséché à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant et pesé. En tenant compte des poids moléculaires le poids du précipité est multiplié par le facteur 0,2074 représentant de P. M. de sel de cobaltinitrite potassique. *Nous avons trouvé dans* 100 *gr. de rein étudié* 1,55% *gr. de potassium exprimé en oxyde de potassium* (K^2O).

---

(14) Garola et Braun. — Dosage pondéral de la potasse. Annales des falsifications 1917, p. 572.

CALCIUM ET MAGNESIUM.

Le calcium et le magnésium jouent dans le domaine biologique un rôle de la plus haute importance. Ils constituent au même titre que le fer et le phosphore, des éléments fondamentaux indispensables à notre équilibre nutritif. M. *L. Berger* (15) a noté que chez les individus normaux, par vieillissement, le magnésium urinaire augmentait par rapport au calcium. Il semble donc diminuer dans l'organisme. Ainsi, l'organisme âgé paraît retenir plus facilement le calcium que le magnésium. Or, chez le tuberculeux et le cancéreux, le rapport Ca/Mg augmente, l'élimination du magnésium diminuant par rapport au calcium. Il semble donc retenu par l'organisme. Serait-ce là une preuve de la nécessité de ce métal dans la lutte contre ces deux redoutables maladies?

D'après de nombreuses publications faites par le Professeur *Delbet*, il semble démontré que le magnésium a une grande importance.

Dosage du Calcium.

Le procédé classique consistant à précipiter les sels de calcium par l'acide oxalique ou par les oxalates solubles, en présence de chlorure d'ammonium, présente l'inconvénient de précipiter de petites quantités de sels magnésiens, par conséquent de donner des résultats inexacts. Pour éviter cette cause d'erreur, nous nous sommes adressés pour le dosage de calcium au procédé Lematte, Boinot et

---

(15) Berger M. L. — Le rapport Ca/Mg dans quelques urines normales et pathologiques. Thèse doct. Pharm. Montpellier 1929.

Kahané (16) qui est basé sur le fait que les sels de calcium donnent avec l'acide oxalique ou les oxalates, un oxalate insoluble dans l'eau. Au moyen d'une solution de permanganate de potassium nous avons déterminé volumétriquement la quantité d'acide oxalique et, par voie de conséquence la chaux qui lui était combinée. La matière organique a été détruite par l'acide azotique et l'acide perchlorique; l'excès d'acidité est évaporé, et on étend avec l'eau. La solution aqueuse limpide a été concentrée autant que possible; on porte à l'ébullition et on ajoute quelques goûttes d'une solution à 1% d'hélianthine, puis de l'ammoniaque jusqu'à réaction alcaline; il se forme un précipité. On ajoute 2 à 3 cm^3 d'une solution saturée à chaud de chlorure d'ammonium, et la quantité nécessaire d'une solution saturée de citrate d'ammoniaque pour dissoudre le précipité. On ajoute 2 à 3 cm^3 d'une solution saturée et bouillante d'acide oxalique.

On additionne le mélange de quelques gouttes d'acide chlorhydrique pour faire virer l'hélianthine; la solution bouillante est ramenée à la neutralité par l'ammoniaque. On ajoute ensuite goutte à goutte 2 cm^3 d'une solution bouillante d'oxalate d'ammoniaque. Le précipité est alors très dense et tombe facilement au fond du vase. On laisse déposer pendant 4 heures. On ne doit pas attendre plus longtemps pour pratiquer la filtration. Le précipité est alors très dense et à l'état de grains cristallisés suffisamment gros, pour ne pas traverser le filtre et par conséquent pour être retenu par ce dernier.

---

(16) Lematte L., Boinot G. et Kahané E. — Dosage de minéraux contenus dans les principaux organes utilisés en opothérapie, Journ. Ph. et Chim. 1927, t. V, p. 325, 361.

On filtre, on lave avec de l'eau froide jusqu'à ce que le filtrat ne décolore plus une solution étendue de permanganate de potasse. On dissout le précipité en ajoutant goutte à goutte sur le filtre une solution à 6% d'acide sulfurique, on en emploi environ 40 cm^3. On met le récipient dans une capsule en porcelaine contenant de l'eau à 60°, on titre avec une micro-burette contenant une solution de permanganate de potasse à 0,160 gr. pour 1000 cm^3. Un centimètre cube de cette solution correspond à un milligrame de CaO ou à 1,321 mgr. de $Ca(OH)^2$. On agite après chaque addition de permanganate, on arrête l'addition de MnO^4K jusqu'à ce que la coloration persiste au moins 30 secondes. Avec ce dispositif on voit immédiatement l'apparition de la teinte rose. En opérant ainsi on évite la précipitation de magnésium.

Nous avons ainsi constaté que 100 *gr. de notre poudre contiennent* 0,05416 *gr. de chaux hydratée* ($Ca(OH)^2$), *ce qui correspond à* 0,041 *gr. d'oxyde de calcium* (CaO).

Dosage du Magnésium.

La solution privée de la chaux est ramenée à un volume très petit par concentration, on neutralise avec de la soude, on acidifie par quelques gouttes d'acide chlorhydrique; on ajoute 0,50 gr. de phosphate de soude. On porte à l'ébullition et on ajoute 10 cm^3 d'ammoniaque, on frotte les parois, on agite, et on laisse déposer 2 heures le précipité; on filtre, on lave le précipité sur le filtre avec de l'eau ammoniacale à 2%. Le lavage est terminé quand le filtrat évaporé sur une lame de verre ne laisse plus aucun résidu. Le précipité est séché,

calciné et pesé à l'état de pyrophosphate de magnésium; le poids trouvé multiplié par 0,21839 donne en magnésium le résultat; par 0,3620, celui de MgO.

100 *gr. de poudre de rein renferment* 0,170 *gr. d'oxyde de magnésium.*

LE MANGANÈSE.

Le manganèse est très répandu dans le règne animal (17) et le règne végétal (18) et tient une place prépondérante parmi les éléments catalytiques, par son rôle activateur des phénomènes enzymatiques. MM. Jadin et Astruc ont analysé de nombreux végétaux et on montré que la présence du manganèse est constanté chez les plantes.

Le manganèse se comportant, dans tous les cas de la vie biologique, comme un vecteur d'oxygène, prend la plus haute importance parmi les substances activatrices des phénomènes enzymatiques. Considérant d'autre part que le manganèse jouit par lui-même de propriétés oxydantes très énergiques, il est naturel de penser que dans l'organisme animal, où précisément il se trouve à l'état de traces, cet élément peut se comporter comme un transporteur d'oxygène, et augmenter par conséquent l'activité fonctionnelle des tissus (19). Le

(17) Bertrand G. et Medigriceanu. — Recherche sur la présence de manganèse dans la série animale. Bull. Soc. Chim. 1912, XI, p. 834, 857, et C. R. Acad. Sc. 1912, CLIV, p. 1450.

(18) Jadin F. et Astruc A. — La répartition du manganèse dans le règne végétal. Journ. Pharm. et Chim. 1913, VII, p. 155.

(19) Garnier M. — Le rôle biologique du manganèse. Dosage du manganèse dans les cendres de plantes Lorraines. Th. doct. Pharm. Nancy 1928.

dosage est effectué selon la technique de Bertrand et Rosenblatt (20) dont le principe consiste à transformer le manganèse en permanganate de potassium, et à comparer l'intensité de la coloration obtenue, avec une gamme de solutions étalons contenant des quantités connues de manganèse semblablement traité.

La matière organique a été détruite par incinération au rouge sombre. Le manganèse se trouve alors à l'état de sesquioxyde. Les cendres sont dissoutes dans l'acide chlorhydrique concentré, évaporées au B. M. et calcinées de nouveau sans dépasser le rouge sombre. Les sulfates étant moins solubles que les chlorures, les dernières traces de charbon ont disparu alors facilement et tout le manganèse est dissous. Si l'on craint d'avoir trop chauffé et qu'une partie du manganèse soit repassée à l'état de sesquioxyde, on humecte le résidu avec HCl concentré, on chauffe une à deux minutes, puis on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique pour chasser l'acide volatil.

On évapore au B. M., puis on chauffe à feu nu jusqu'à l'apparition de fumées blanches. Les cendres sulfatées sont dissoutes dans l'acide azotique au 1/3, transformées en permanganate au moyen du persulfate de potassium en présence d'azotate d'argent, et amenées à un volume déterminé par addition d'acide azotique au tiers. Pour le dosage colorimétrique une solution mère est préparée renfermant 4,054 gr. de sulfate de man-

(20) Bertrand G. et Mme Rosenblatt. — Recherche et dosage de petites quantités de manganèse, en particulier dans les substances organiques. Bull. Soc. Chim. 1911, IX, p. 361, et Bull. Sc. Pharmacol. 1911, p. 195.

ganèse ($MnSo^4.4H^2O$), soit 1 mgr. de moins par cm^3. Avec cette solution mère on prépare deux dilutions A au 1/10 et B au 1/100 en plaçant dans une série de tubes à essais des quantités exactement mesurées de ces dilutions et en les traitant à l'ébullition par le persulfate de potassium et le nitrate d'argent, en présence d'acide nitrique, on établit une série de tubes qui forment une gamme colorée à laquelle on compare le tube contenant la manganèse à doser.

En multipliant les essais comparatifs, l'approximation peut être poussée jusqu'à une sensibilité extrême. Cette méthode ne réussit qu'avec des solutions extrêmement diluées en manganèse, si non il se forme du bioxyde de manganèse qui ne permet pas d'apprécier exactement l'intensité de la coloration.

Nous avons par cette technique décélé 1,05 *mgr. % de manganèse.*

DOSAGE DU FER.

Nous avons suivi la méthode indiquée par Scagliarini et Pratesti (21). Elle consiste en une réduction quantitative du Fe''' en Fe'' par le cuivre métallique en présence d'acide sulfurique, et réoxydation ultérieure au moyen du permanganate de potassium.

Nous avons effectué la destruction des matières organiques de notre poudre de rein suivant la technique énoncée lors du dosage du sodium. La solution ferrique est mise dans un vase de 800 cm^3

(21) Scagliarini et Pratesti P. — Méthode rapide de dosage de fer. Ann. chim. applic. 1921, XIX, cité par Bull. Soc. Chim. biologique 1929, XXXXVI, p. 1156.

contenant 250 cm^3 d'eau distillée; on ajoute 15 cm^3 d'acide sulfurique concentré et chauffé. Quand le liquide entre en ébullition on introduit une spirale de cuivre attachée à une baguette de verre: on continue l'ébullition pendant un quart d'heure, puis on enlève la spirale, lave à l'eau distillée et on laisse refroidir en ayant soin d'ajouter quelques cristaux de carbonate de sodium. On étend avec de l'eau jusqu'à 400 à 500 cm^3 et on titre à froid avec du permanganate de potassium N/20 dont chaque centimètre cube correspond à 0,0028 gr. de fer.

Nous avons trouvé 0,108% Fe^2O^3.

I. — Généralités sur les Cuivre, Zinc, Nickel et Cobalt.

Le cuivre. — La présence du cuivre dans l'organisme animal et végétal considérée d'abord comme accidentelle, a été ensuite reconnue normale à la suite de nombreux travaux (22).

Universellement répandu dans la terre, ce métal s'accumule chez les végétaux, de préférence là où il y a davantage d'eau, c'est-à-dire aux points qui possèdent la plus grande activité vitale; les organes se desséchant en vieillissant, s'appauvrissent en cuivre pour le céder à ceux qui naissent et se nourrissent de leurs réserves. On peut dire que le cuivre chez les végétaux est un élément essentiellement diffusible et migrateur.

---

(22) Dubois, Raphaël. — Sur le cuivre dans la série animale, C. R. Soc. Biol. 1900, série 11, p. 392.

L. Maquenne et E. Demoussy. — C. R. Acad. Sc., t. CLXX, p. 87 et Bull. Soc. Chim. 27, 1920, 4e série, p. 266.

Guérithault. — Recherche sur la présence de cuivre chez les végétaux et dans l'organisme humain à l'état normal et pathologique (cancer). Th. Doct. Pharm. Paris 1927.

Chez les animaux, les globules du sang en contiennent 3 fois plus que le plasma. Ces résultats sont à rapprocher de ceux obtenus pour le zinc; mais pour le cuivre, les différences sont moindres entre le plasma et les globules. D'après Guérithault il n'y a pas de différence en teneur en cuivre, entre l'état normal et l'état pathologique. La prolifération cancéreuse, en particulier ne semble pas due à une carence en cuivre comme certains auteurs l'ont fait supposer.

Le Zinc. — Le zinc, d'une importance capitale dans l'alimentation des animaux (23) se rencontre en proportions notables et d'une façon constante dans les tissus. La teneur en zinc varie non seulement d'un organe ou d'un tissu à un autre, mais elle varie encore dans le même organe suivant l'individu. L'influence de l'âge se fait également sentir.

Les Nickel et Cobalt. — Il est démontré que le nickel et le cobalt existent partout dans la terre arable, et qu'une certaine proportion de ces métaux est absorbée par les plantes et se répand dans tous les organes.

Ainsi engagés dans la matière vivante, le nickel et le cobalt ne peuvent manquer de s'introduire par l'alimentation dans le tube digestif de l'homme et des animaux.

---

(23) Bertrand et Benzon. — Sur l'importance du Zinc dans l'alimentation des animaux, expériences sur la souris C. R. Acad./Sc. 1922, T. 175, p. 289.

Les travaux de G. Bertrand et M. Machebœuf (24) ont montré que le cobalt et le nickel associés l'un à l'autre se trouvent dans plusieurs organes de l'homme et des animaux; chez les animaux on retrouve plus de Cobalt que de nickel, c'est l'inverse chez les végétaux.

DOSAGE DU Cu, Zn, Ni, Co.

Nous avons préféré détruire la matière organique en milieu liquide. La méthode utilisée est celle de G. Bertrand (25), ensuite nous avons séparé d'un coup ces métaux du mélange complexe en le dosant ensuite séparément en réunissant les méthodes préconisées par G. Bertrand et M. Javillier (26) et par G. Bertrand et M. Morkagnatz (27). Le cuivre est dosé par la méthode de Maquenne et Demoussy (28). La poudre du rein est introduite dans un matras à long col, on chauffe jusqu'à ébullition avec 100 gr. d'acide sulfurique pur, dans lesquels on a laissé couler peu à peu 100 gr. d'acide

(24) G. Bertrand et M. Machebœuf. — Sur la présence de Nickel et Cobalt chez les végétaux et animaux. Comp. Rend. Acad. Sc. t. 180 p. 1380, 1993. Cité par Bull. soc. chim. T. 38. p. 1365, 1925.

(25) Bertrand et Vladesco. — Recherche sur la répartition du zinc dans l'organisme du cheval. Bull. soc. chim. 1921, t. 29, p. 53.

(26) Bertrand et M. Javillier. — Sur une méthode permettant de doser de très petites quantités de zinc. Bull. Soc. chim. de Paris, t. III, 1908, p. 115-117.

(27) G. Bertrand et M. Morkagnatz. — Sur une méthode permettant de séparer quantitativement d'un mélange complexe de très petites quantités de Cuivre, de Zinc, de Nickel et de Cobalt. Bull. Soc. chim., T. XXXII, p. 1539, 1923.

(28) Maquenne et Demoussy. — Bull. Soc. chim (4), 1919, t. 25, p. 272 et 1920, t. 27, p. 266.

azotique. Lorsque la destruction des substances organiques est complète, la solution acide est évaporée à sec dans une capsule de porcelaine.

Le résidu est arrosé d'HCl concentré, on évapore, on reprend par l'eau acidulée par l'acide chlorhydrique, on filtre.

Le filtrat et versé dans l'ammoniaque pure et en quantité telle que le mélange final renferme 20 à 25% de la solution ammoniacale saturée. On ajoute de l'eau oxygénée pour peroxyder le Mn et assurer sa précipitation. On filtre, on redissout le précipité dans l'acide chlorhydrique concentré et on recommence la précipitation par l'ammoniaque et l'eau oxygénée. On réunit les liqueurs ammoniacales, on les porte à l'ébullition, on ajoute quelques gouttes de phénolphtaléine, et on y introduit peu à peu une quantité de lait de chaux suffisante pour libérer totalement l'ammoniaque combiné; on maintient l'ébullition jusqu'à ce que les vapeurs ne bleuissent plus le papier de tournesol, et que la liqueur soit rose, sinon, on ajouterait à nouveau un lait de chaux (opération très importante).

Quand toute l'ammoniaque est éliminée, on redissout le précipité adhérent aux parois et celui qui est contenu sur le filtre avec de l'acide chlorhydrique à 1/10. Après lavage, le filtre est séché et brûlé; les cendres sont dissoutes dans un peu d'acide chlorhydrique. On évapore presque à sec, reprend par l'eau et réunit le liquide à la solution principale; la solution chauffée légèrement est traitée par un courant d'hydrogène sulfuré, puis abandonnée plusieurs heures, bouchée pour que le sulfure de cuivre flocule complètement. Après centrifugation prolongée, on dissout le sulfure de

cuivre recueilli sur un petit filtre dans une petite quantité d'acide nitrique pur, on évapore, on calcine le nitrate de cuivre formé dans une petite capsule de quartz, on redissout l'oxyde résiduel dans 3 gouttes d'acide chlorhydrique pur.

On fait passer la solution dont le volume y compris les eaux de lavage ne doit pas dépasser 2 cm^3 dans un tube de petit calibre bouché; on ajoute 2 gouttes de solution de sulfate de Zinc à 1,1% et après agitation 1 goutte de ferrocyanure de potassium à 10%; agiter alors une minute. Laisser au repos une demi-heure et centrifuger pour rassembler le précipité dont la coloration est comparée avec celles des précipités obtenus dans les mêmes conditions et contenant des quantités connues de cuivre; (par exemple une solution de sulfate de cuivre titrée à 5 mgr. de cuivre métallique pour 100 cm^3), on peut constituer par exemple une série de 20 tubes de 1/200 à 20/200 de milligramme. Outre le 1/200 et le 1/100 de milligramme, 10 tubes ayant entre eux une différence de 1/2000 de milligramme etc.

Le volume évalué en gouttes qu'il faut employer de cette dernière solution pour obtenir la même teinte fait connaître à 2 ou 3 millièmes de milligramme près la quantité de cuivre cherchée.

Nous avons ainsi trouvé: 0,0075% *de cuivre.*

B. — Le liquide acide, séparé du sulfure de cuivre, est évaporé à sec. Le résidu est repris par de l'eau chaude et filtré dans une petite fiole conique. La capsule et le filtre sont bien lavés. La solution est alcalinisée très légèrement par l'ammoniaque, puis acidulée franchement par l'acide citrique (40—50 gouttes par exemple, d'une solu-

tion d'acide citrique au dixième.) La liqueur est alors saturée par l'hydrogène sulfuré; on laisse reposer 24 heures avant de filtrer. Le sulfure est alors dissout dans l'acide sulfurique au 1/20. La solution est évaporée au B. M. puis à feu nu, dans une capsule de platine. On pèse le sulfate anhydre, dont le poids, multiplié par 0,4025 donne la quantité de Zn. Dans la substance analysée.

Nous avons trouvé: 25,2 *mgr. % de zinc.*

La liqueur citrique débarrassée de cuivre et de zinc, est additionnée d'ammoniaque et quelques gouttes de sulfure d'ammonium. Après un repos de quelques heures on rassemble le précipité sur un petit filtre, on lave avec de l'eau contenant un peu de sulfhydrate d'ammoniaque en recouvrant l'entonnoir avec un verre de montre. On sèche le filtre et le précipité et on les calcine dans une capsule de porcelaine. Le résidu est dissous dans l'acide chlorhydrique concentré. On évapore pour chasser l'excès d'acide et l'on reprend par l'eau distillée. On verse la solution dans un tube à essais et porte à l'ébullition et additionnée d'un excès d'une solution alcoolique au 1/100^{e} de dimethylgloxime et alcalinisée par quelques gouttes d'ammoniaque au 1/10^{e}; le précipité filtré et desséché de nickel glyoxime, est alors dissous à chaud dans un peu de chloroforme et pesé après évaporation du solvant. Le poids obtenu multiplié par 0,203 donne la quantité correspondante de nickel.

Remarque: Etant donné le poids de nickel difficile à déterminer avec précision à l'aide de la balance, nous avons dû user, pour apprécier ce poids, d'un artifice consistant à redissoudre la

combinaison glyoximique rouge vif, rassemblée dans un petit volume de chloroforme (1 cm^3 et même 0,5 cm^3) laissant évaporer tranquillement à l'air libre, et comparant le résidu avec ceux fournis, dans des conditions semblables de précipitation, d'extraction et d'évaporation, par des quantités connues de nickel. De cette manière, on peut évaluer quantitativement 1/500e de milligramme de nickel.

Nous avons ainsi trouvé: 0,00025 % *de nickel.*

Il ne reste plus qu'à doser le cobalt.

La solution séparée du précipité de nickel-glyoxime est évaporée à sec, l'extrait est calciné à une température modérée, pour detruire la combinaison organique et chasser les sels ammoniacaux. Le résidu est dissous dans HCl concentré. Quand la dissolution est complète, on transvase dans une capsule plus petite, on évapore à sec et l'on reprend avec le moins possible d'eau distillée. On neutralise par du carbonate de soude, puis on traite par quelques gouttes d'une solution d'azotite de potassium en milieu acétique; un précipité jaune décèle le cobalt que l'on peut doser comparativement avec une solution de titre connu en cobalt, s'il se trouve en quantité suffisante; ou en pesant le cobaltinitrite dont le poids multiplié par 0,13 donne le cobalt.

Remarque. — Etant donnée la faible quantité de Co difficile à déterminer à l'aide de la balance nous avons opéré comme suit:

L'eau mère, séparée après la précipitation du nickel par le dimethyglyoxime est évaporé à sec et débarrassée, par chauffage au rouge sombre dans un four à moufle, du réactif organique et de

l'ammoniaque. Le résidu est redissous à la température du B. M. dans l'acide chlorhydrique concentré; on évapore à sec, on reprend par l'eau et l'on amène la solution dans un petit tube calibré, avec l'eau de lavage au volume total de 2 cm^3, on ajoute alors 0,2 cm^3 de solution alcoolique de diméthylgloxime à 1% et 2 gouttes d'ammoniaque au 1/10, le liquide se colore immédiatement en jaune brunâtre s'il renferme 0,1 mgr. de cobalt, en jaunâtre faible, mais net, s'il en contient 0,01 mgr.

Après une heure d'attente, car la coloration du début s'affaiblit dans les premiers moments (après environ une demi-heure, la coloration ne change plus, on la trouve égale à celle d'un mélange préparé depuis la veille). On compare la coloration avec celles d'une gamme réalisée à l'aide de solutions titrées de cobalt et diluée convenablement pour avoir toute cette gamme voulue.

La réaction est encore visible avec 0,002 mgr. de cobalt dissous dans 1 cm^3, surtout si l'on opère par comparaison avec un mélange exempt de métal. Avec seulement 0,001 mgr. de cobalt par centimètre cube, il n'y a plus de coloration; on observe seulement un léger virage perceptible au moment où tombe l'ammoniaque. Par suite de l'affaiblissement de la coloration durant les premiers instants, la sensibilité de la réaction employée dans un but quantitatif se trouve ramenée au minimum de 0,005 mgr. par centimètre cube. A cette dilution, la faible coloration jaunâtre persistante est encore sûrement visible par comparaison avec un liquide sans cobalt.

Nous avons ainsi trouvé: 0,00032 *% de cobalt.*

RECHERCHE DE L'ARSENIC.

En 1912, dans une communication à l'Académie des Sciences, MM. les Professeurs Jadin et Astruc (29) élargissant les travaux d'Armand Gautier et de Bertrand sur l'existence normale de l'arsenic dans l'organisme animal, ont fait connaître, en s'appuyant sur l'analyse de plus de 80 échantillons, que l'arsenic se trouvait aussi normalement dans les végétaux. Des résultats de leurs expériences ils ont tiré les conclusions suivantes (30) :

1° L'arsenic constitue un élément important de l'activité protoplasmique.

2° Une des origines de l'arsenic normal trouvé dans les organes des animaux réside dans les végétaux qui sont absorbés comme aliments.

Il nous a semblé intéressant de rechercher l'arsenic dans notre poudre de rein, quoique les travaux de Gautier montrent qu'il n'y existe pas en quantité telle qu'on puisse le doser.

La destruction de la matière organique a été effectuée, dans une grande capsule, par le mélange nitro-sulfurique à chaud et au bain de sable.

La masse calcinée, dégageant d'abondantes vapeurs blanches, est traitée par de l'eau distillée bouillante, la liqueur filtrée, après refroidissement, donne un filtrat limpide et brun. Par quelques gouttes de solution de bisulfite de soude on réduit l'acide arsénique à l'état d'acide arsénieux, dont la précipitation par l'hydrogène sulfuré est plus

---

(29) Jadin et Astruc. — C. R. Ac. Sc. 1912, t. 154, p. 893 et t. 155, p. 291.

(30) Jadin et Astruc. — Journ. Pharm. et Chimie, 1912, t. VI, p. 529.

rapide (31). La solution est concentrée au B. M. pour chasser l'excès d'anhydride sulfuré, puis soumise sans filtration et pendant 6 heures à un courant lent d'hydrogène sulfuré purifié. Après 24 heures de repos, le précipité de sulfure est recueilli sur un petit filtre sans plis. On le dissout dans de l'ammoniaque dilué et tiède. La solution ammoniacale est évaporée doucement à siccité au B. M. dans une capsule de porcelaine; le résidu noir obtenu est oxydé à chaud par quelques centimètres cubes d'acide azotique, additionné de quelques gouttes d'acide sulfurique. Le sulfure d'arsenic passe à l'état d'acide arsénique, et l'excès de soufre s'oxyde et se transforme peu à peu en acide sulfurique. On continue de chauffer au bain de sable jusqu'à émission de fumées blanches d'acide sulfurique. La liqueur est alors étendue d'une petite quantité d'eau distillée, puis introduite dans l'appareil de Marsch, modifié par M. Jadin (32), le flacon Wolf producteur d'hydrogène étant remplacé par un flacon dont le dispositif spécial permet d'éliminer complètement toute trace d'oxygène. (Avec cet appareil d'une extrême sensibilité MM. Jadin et Astruc ont obtenu des anneaux avec un milième de milligramme d'arsenic). Nous avons dans ces conditions obtenu un anneau très peu coloré par conséquent la *quantité d'arsenic contenu dans notre poudre n'existe qu'à l'état des traces.*

---

(31) J. Ogier et E. Kohn Abrest. — Traité de Chimie toxicologique 1924, T. I, p. 542.

E. Kohn Abrest. — Méthode générale de recherches et dosage d'arsenic. C. R. Ac. Sc. 1920, 171, p. 1179-82.

(32) Jadin F. et Astruc A. — Journ. Pharm. et Chim. 1912. V. p. 233.

Titane.

Très répandu dans la nature, le titane se rencontre dans le règne animal ainsi que l'ont montré les travaux de G. Bertrand et Mme Voronca Spirt (33). Il nous a paru intéressant de doser ce métal dans la poudre de rein; pour cela nous avons eu recours à la méthode colorimétrique de A. Weller (34), basée sur la réaction de Schön (35), c'est-à-dire sur la transformation du titane en acide pertitanique de couleur jaune orangé, au moyen de peroxyde d'hydrogène et l'intensité de la coloration est comparée à celle d'une solution étalon. La poudre de rein a été calcinée dans une capsule de platine. Pour volatiliser tout le silicium, on reprend les cendres par quelques centimètres cubes d'eau, additionnée d'acide sulfurique et d'acide fluorhydrique concentré et l'on évapore à sec au B. M. On chauffe le résidu sur une petite flamme avec quelques cm^3 d'acide sulfurique concentré jusqu'à production de fumées épaisses. Après refroidissement, le contenu de la capsule est repris par de l'acide sulfurique dilué et transvasé dans une fiole jaugée de 50 cm^3. La dissolution n'a pas

---

(33) Bertrand et Mme Voronca-Spirt. — Recherches sur la présence et la répartition du titane dans les plantes phanérogames et cryptogames. Bull. Soc. Chim. 1929, p. 1044, t. 45; 1930, 47, p. 102.

Bertrand et Mme Voronca-Spirt. — Recherches sur la présence et la répartition du titane chez les animaux. Bull. Soc. Chim. 1930, 47, p. 643.

(34) Weller. — Recherche et dosage du titane. Berichte der chem. Gesellsch. 1882, XV, p. 2592.

(35) Schön. — Ueber das Verhalten des Wasserstoffsuperoxyde zu molybdän und titansäure, Zs. für analyt. Chem. 1870, IX, p. 41, 330.

été complète, un léger trouble s'est produit qui est dû probablement à du sulfate de calcium.

D'après Walton (36) et Faber (37) la présence d'acide phosphorique empêche la réaction du peroxyde d'hydrogène. G. Bertrand et Mme Voronca-Spirt le contestent. Les sels de fer, par contre gênent la détermination de titane en donnant d'eux-mêmes une coloration jaune. On pare à cet inconvénient en transformant les sels ferriques en complexe incolore, par addition convenable d'une solution de potassium titrée (à 0,25 de sel par cm^3). On ajoute cette liqueur à la solution acide des cendres, colorée en jaune jusqu'à décoloration et l'on en tient compte en ajoutant à la solution de titane titrée qui sert de terme de comparaison.

Pour le dosage colorimétrique, on prépare une solution étalon; on dissout 0,25 gr. d'oxyde de titane dans un litre d'acide sulfurique à 5% en chauffant et on ajoute de l'acide fluorhydrique pour faciliter la dissolution.

On verse des volumes croissants et connus dans des tubes contenant la même quantité d'acide phosphorique à l'état de phosphate acide de potassium qui se trouve dans la solution de cendres étudiée. On ajoute 0,5 cm^3 d'eau oxygénée et l'on complète avec de l'acide sulfurique à 5%.

D'autre part, on filtre la solution de cendres à travers un filtre préalablement lavé avec quelques cm^3 d'acide sulfurique à 5%, on ajoute à un volume

---

(36) Walton. — Zs für analyt. Chemie, 1871, IX, p. 41, et 330.

(37) Faber. — Die kolorimetrische Bestimmung des Titans und ihre Anwendbarkeit neben Eisen, Chem. Zeit. 1907, p. 263.

connu d'eau oxygénée pur (100 volumes), et l'on complète à un volume déterminé avec de l'acide sulfurique à 5%. La coloration jaune apparaît immédiatement, la méthode est très sensible. *Nous avons constaté que* 100 *gr. de la poudre de rein renferment* 0,0011 *en oxyde de Titane* (TiO^2).

METALLOIDES.

DOSAGE DU SOUFRE.

La matière provenant de la destruction des matières organiques contient le soufre total à l'état de ion SO^4, on le dose à l'état de sulfate de baryum d'après la technique habituelle des laboratoires. La présence d'acide azotique et d'acide perchlorique peuvent gêner la précipitation, on les élimine en évaporant la solution limpide à sec avec de l'acide chlorhydrique au B. M.; on redissout le résidu par 1 cm^3 d'acide chlorhydrique; on étend la solution par de l'eau distillée, et précipite les métaux trivalents par un grand excès d'ammoniaque à une température d'environ 70°.

On neutralise exactement le filtrat par l'acide chlorhydrique et on ajoute 1 cm^3 d'acide chlorhydrique concentré et on fait une grande dilution. La solution est chauffée à l'ébullition, et on y ajoute une solution étendue de chlorure de baryum également bouillante et on agite constamment. Après un repos de 12 heures dans un endroit chaud, on filtre, on lave le précipité par de l'eau bouillante jusqu'à ce que les eaux de lavage ne précipitent plus par l'azotate d'argent, on sèche, calcine et pèse.

Le poids de sulfate de baryum trouvé multiplié par 0,42043 donne la quantité d'acide sulfurique

(SO^4H^2) contenu dans la prise d'essai; en multipliant par 0,34326 on exprime les résultats en anhydride sulfurique (SO^3). Par 0,1375, on l'exprimerait en soufre (S).

La poudre de rein renferme:

2,136% *en acide sulfurique et* 0,7% *en soufre.*

Ce résultat représente la moyenne de trois dosages.

DOSAGE DU PHOSPHORE TOTAL.

Nous avons dosé le phosphore à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien (Po^4MgNH^4) en calcinant et pesant ce précipité à l'état de pyrophosphate de magnésium; la matière organique de la poudre de rein a été détruite avec un mélange d'acide azotique fumant, d'acide perchlorique et l'eau distillée. On précipite d'abord les phosphates avec le molybdate d'ammonium, afin de les séparer à l'état plus ou moins pur, d'après la technique indiquée par Voy (38). On mélange dans un bécher à précipitation la solution phosphorique neutre ou légèrement acidulée par l'acide nitrique avec de l'azote d'ammonium et l'acide azotique; on porte à l'ébullition; on fait bouillir dans un autre bécher une solution de molybdate d'ammonium et on réunit les deux liqueurs. Il se forme un précipité de phospho-molybdate d'ammonium jaune; on agite encore une minute et on laisse reposer 15 minutes. On décante la solution surnageante par filtration, on lave le précipité et on le redissout dans de l'ammoniaque à 8%. On ajoute de nouveau de l'azo-

(38) F.-P. Treadwel. — Manuel de Chimie analytique, t. II, Dunod, 1924, p. 388.

tate d'ammonium et du molybdate d'ammonium et on porte à l'ébullition; on ajoute goutte à goutte en agitant constamment de l'acide azotique. Il se forme immédiatement un précipité qui est alors pur, de composition $(NH^4)^3Po^4$, $12MoO^3$, $2HNO^3$, $4H^2O$. On filtre après 10 minutes, on lave le précipité avec de l'eau contenant 1/20 de son volume de réactif molybdique. On filtre sans chercher à entraîner le précipité sur le filtré. On le redissout avec de l'ammoniaque; après dissolution complète, on y ajoute un excès de mixture magnésienne acide et on chauffe jusqu'à ébullition. On additionne de quelques gouttes de phénolphtaléine et de la solution d'ammoniaque à 2,5%, en agitant constamment jusqu'à apparition d'une coloration rose du liquide. S'il se forme un trouble laiteux, on le redissout dans l'acide chlorhydrique. Le précipité qui se forme doit être cristalin dès le début. Pendant la formation du précipité, on ajoute l'ammoniaque en excès, on laisse alors refroidir. On ajoute à la liqueur le cinquième de son volume d'ammoniaque concentrée et on laisse reposer 12 heures.

On filtre, on lave le précipité avec de l'ammoniaque à 2,5% quelquefois par décantation, puis, sur le filtre, on le sèche à 100°, on brûle le filtre dans une capsule de platine et on ajoute aux cendres le reste de la masse principale. On chauffe d'abord avec une petite flamme jusqu'à ce que l'ammoniaque ne se dégage plus, ensuite on élève graduellement la température, en calcinant enfin jusqu'à obtention des cendres blanches. On pèse après refroidissement. Le poids obtenu multiplié par le coëfficient 0,6396 donne la quantité d'anhydride phosphorique (P^2O^5) correspondant à la

prise d'essai. Si on multiplie par 0,8534, on a la quantité de Po^4, et en multipliant par 0,287 le phosphore total.

Nous avons constaté que 100 *gr. de rein renferment* 3,18% *d'acide phosphorique ce qui correspond à* 2,302% P^2O^5 *et* 1,03 *phosphore total* (*P*).

LE DOSAGE DU PHOSPHORE SOUS SES DIFFERENTES FORMES.

(*phosphore nucléique, phosphore lipoïdique.*)

Nous avons fait ces dosages d'après les méthodes préconisées par Javillier et ses collaborateurs (39).

a) La méthode préconisée par ces auteurs pour la délipoïdation à froid par le mélange d'alcool-éther nous paraît être incomplète en se basant sur les conclusions qui se dégagent des critiques faites par Lameland à la méthode de Kumagawa-Suto, et surtout de travaux effectués par Terroine et ses élèves, il est certain qu'aucun solvant organique ne peut enlever la totalité des lipoïdes et du phosphore organique soluble.

Ainsi les expériences faites par Terroine en utilisant la méthode de Kumagawa-Suto sur le sang, ont permis en effet de constater que, dans ce cas, le résidu d'extraction alcoolique renfermait encore après 8 heures d'épuisement 2,3% d'acides gras totaux.

b) En ce qui concerne le dosage du phosphore nucléique il est très difficile, sinon impossible de recueillir la poudre qui se trouve attachée sur les

(39) l. c.

parois du flacon dépoli et surtout sur les billes de verre qui se dépolissent pendant l'agitation. Les essais que nous avons exécutés avec des ballons dépolis ne nous ont pas permis de recueillir toute la poudre qui se trouvait sur les parois du ballon.

En outre, après l'ébullition de la poudre avec la solution de chlorure de sodium à 15%, les auteurs font passer la poudre et le liquide dans un ballon jaugé de 50 cm^3, puis, après addition de la solution de chlorure de sodium jusqu'à 50 cm^3, ils filtrent après un repos de 6 heures et ils effectuent le dosage du phosphore nucléique sur 25 cm^3 du filtrat; ils multiplient par 2 les chiffres obtenus et ont ainsi la quantité de phosphore nucléique existant dans la prise d'essai. Cette méthode comporte une cause d'erreur. En effet, la poudre se gonfle en absorbant une partie de la solution et d'autre part, la quantité de la solution de chlorure de sodium n'est pas égale à 50 cm^3 puisque la poudre occupe un certain volume diminuant d'autant le volume total de 50 cm^3. Donc les 25 cm^3 du liquide qu'ils prélèvent correspondent en réalité à plus de la moitié de la solution. Il en résulte que le nombre de milligrammes de phosphore nucléique obtenus dans le dosage sont inférieurs à la réalité.

Tenant compte de ces observations, nous avons employé la méthode suivante pour le dosage de différentes formes de phosphore sur une même prise d'essai.

a) Dosage du phosphore lipoïdique.

La poudre de rein est épuisée au moyen de l'alcool à 95° dans l'appareil à extraction continue de Kumagawa-Suto; on fait l'extraction pendant

8 à 9 heures consécutives, le liquide alcoolique est distillé sous pression réduite dans une fiole de Kjeldahl de 200 cm^3, le résidu est déshydraté par deux affusions successives d'alcool absolu (25 cm^3 chaque fois), on élimine l'alcool par la distillation. On reprend alors à deux reprises le résidu déshydraté par de l'éther anhydre (25 cm^3 chaque fois), on ne compte comme phosphore lipoïdique que celui qui passe en solution éthérée. Le liquide éthéré est filtré dans une fiole de Kjeldahl de 100 cm^3, on distille l'éther, le résidu provenant de cette distillation est soumis à la destruction sulfonitrique, et la liqueur obtenue sert au dosage du phosphore lipoïdique, selon la méthode indiquée pour le dosage du phosphore total.

b) Dosage du phosphore nucléique.

La poudre dont on a isolé les lipoïdes et qui se trouve dans la cartouche de l'appareil de Kumagawa-Suto est introduite dans un ballon Pyrex (de 250 cm^3) à col court et à fond rond et muni d'un réfrigérant à reflux. On ajoute 50 cm^3 d'une solution de chlorure de sodium à 15 gr. %, 2 à 3 billes de verre et on porte à une lente ébullition qu'on maintient 20 minutes.

Pendant toute la durée de cette extraction chlorurée, on ramène dans le liquide par agitation les particules de matières qui sont soulevées par la mousse; on peut détruire la mousse par quelques gouttes d'alcool-octylique. On retire le ballon, on ajoute environ 30 billes de verre et on remplace le réfrigérant par un bouchon fermant bien le flacon, et on le soumet à une agitation mécanique pendant 2 heures. On laisse macérer pendant 4 heures, on

filtre sur un papier filtre durci, avec l'aide de la trompe à eau.

Ce filtrat sert pour le dosage du phosphore nucléique; en prend 25 cm³ de cette solution dans un tube à centrifugation de 50 cm³ et en agitant, on ajoute 8 à 10 gouttes d'acide chlorhydrique dilué de moitié. Il se forme un précipité blanc qui précipite et gagne le fond du tube; après une centrifugation de 30 minutes, on recueille le précipité qui surnage sur un filtre, on lave le tube à centrifugation et le filtre deux fois au moyen d'une pissette avec une solution de chlorure de sodium à 15 gr. %. Une partie du précipité nucléique reste sur le filtre et l'autre se trouve au fond du tube de centrifugation. Le précipité est dissout avec de l'acide sulfurique concentré et introduit dans une fiole Kjeldhal; on lave le tube à centrifugation avec de l'eau distillée, on procède à la destruction sulfo-nitrique et on fait le dosage du phosphore nucléique, selon la méthode indiquée pour le dosage du phosphore total:

Voici nos résultats obtenus:

Phosphore (en Po^4H^3 = 3,18%	P. lipoïdique = 0,3131 P. nucléique = 0,22	0,5331
Phosphore (en P^2o^5) = 2,302%	+ P. org. indosé	
Phosphore (P total) = 1,03	P. minéral	= 0,4969

LE DOSAGE DU BROME ET RECHERCHE D'IODE

De nombreux auteurs ont cherché à mettre en évidence le brome qui peut exister à l'état de combinaison dans les tissus animaux: leurs conclusions sont contradictoires. Le brome est caractérisé

d'une façon constante par Grange (40) et Rabuteau (41) dans des urines humaines, par Baldi (42) dans des thyroïdes et dans des extraits thyroïdiens, par Paderi (43) dans la glande pituitaire de l'homme et du chien, par Justus (44) dans divers organes d'hommes et d'animaux. Pribram (45) obtint au contraire des résultats négatifs en examinant des thyroïdes d'homme et de bœufs, une rate, un cerveau, et un foie d'homme. Quant à Bourcet (46) au cours de ses nombreuses recherches sur l'iode normal, il a mis en évidence la présence du brome dans quelques organes seulement. M. Labat (47) ne caractérise lui aussi le brome que dans quelques cas, dans 20 thyroïdes humaines, sur 28 examinées, dans deux cerveaux, dans de la poudre d'hypophyse, dans 2 urines. La recherche est également négative dans une hypophyse, dans le sang, dans une urine, dans le foie, la rate, le cœur et le rein.

De l'ensemble de ces faits il ressort que la contradiction entre les résultats positifs et négatifs jette un doute sur les uns comme sur les autres.

M. A. Damiens chargé en 1917 par M. le Professeur Lebeau dans le service toxicologique qu'il

---

(40) Grange. — C. R. XXXIII, p. 627, 1851, XXXIV, p. 333, 1852.

(41) Rabuteau. — Gazette hebdomadaire de Médecine et de Chirurgie, p. 582, 1868. C. R. Biol. (4) V, p. 90 à 91, 1868.

(42) Baldi. — Arch. ital. de Biol. p. 29, 1898.

(43) Paderi. — Bull. Soc. méd. chir. Pavria, 1898. Cité in extenso dans la thèse de M. Labat.

(44) Justus. — Virchons Archiv. CXC, p. 524, 1907.

(46) Pribram. — Z. physiol. Ch. XLIX, p. 457, 1906.

(46) Bourcet. — Thèse Doct. médecine Paris, 1900.

(47) Labat. — Introduction à l'étude de la présence du brome dans les organes de l'homme. Thèse Bordeaux 1912. C. R. Acad. Sc. CLVI, p. 255, 1913.

a dirigé pendant la guerre, de caractériser dans les viscères des toxiques bromés, a été conduit à reprendre toute la question du brome normal, et tout d'abord à faire l'étude critique détaillée des procédés classiques (48) en voici les conclusions:

Les méthodes de caractérisation et de séparation du brome employées par Grange, Rabuteau, Baldi, Paderi et Bourcet sont spécifiques, mais ne permettent pas de dosages précis. Seuls, les résultats positifs d'ailleurs très peu étendus, obtenus par ces auteurs doivent être retenus. Il en est de même en ce qui concerne les travaux plus importants de M. Labat. Inattaquable au point de vue qualificatif, la méthode suivie par ce dernier comporte des causes d'erreur par défaut. Et si les conclusions positives restent certaines, les nombreux résultats négatifs obtenus sont douteux.

Les résultats toujours négatifs de Pribram sont sans valeur. Les méthodes suivies manquant de sensibilité. Enfin, des expériences nombreuses faites par Justus ont conduit cet auteur à trouver dans les organes des teneurs en brome très élevées: elles ne sont pas à retenir, la réaction employée pour caractériser cet élément n'ayant aucun caractère de spécificité.

De tous ces travaux, il reste que le brome n'a été décélé d'une façon certaine que dans quelques organes. Tous les dosages donnés manquent de précision, et par conséquent, il reste une grande incertitude sur le rôle et la répartition de cet élément dans l'organisme.

---

(48) Cette étude a fait l'objet d'une publication détaillée: Bull. Sc. pharm. XXVII, p. 609. 1920.

M. A. Damiens (49) a repris l'étude sur le brome existant normalement dans les tissus animaux. Il a fait de nombreuses analyses de plusieurs organes de l'homme et quelques animaux et a reconnu l'existence normale et constante du brome dans tous les organes examinés. Il était intéressant de rechercher ce même élément dans notre poudre de rein. Nous avons employé la même méthode que l'auteur nommé ci-dessus, notamment la réaction et les modes opératoires adoptés par MM. Denigès et Chelle (50). La sensiblité de cette méthode est grande, la limite étant 0,005 mgr. de brome dans 10 cm^3 de solution examinée. Le dosage est fait colorimétriquement.

Nous avons par la technique de ces auteurs décélé 0,00187 *gr. % du brome. Le même mode opératoire nous a permis au cours de nos recherches de brome, de constater l'absence d'iode.*

CONCLUSIONS.

Dans le metabolisme qui se passe dans l'intimité de nos tissus nous ne savons pas a quel radical azoté ou hydrocarboné les différents métaux sont combinés. Nous ne savons pas non plus comment les métaux sont soudés dans les produits de décomposition intraorganique. Aussi nous pouvions calculer nos résultats empiriquement en rapportant le poids des métaux à leur oxyde le plus habituel, et les métalloïdes à leur acide correspondant.

---

(49) A. Damiens. — Sur le brome existant normalement dans les tissus animaux. Bull. de la Société de Chimie Biologique - 3 - 1921, p. 95.

(50) Denigès et Chelle. — C. R. Acad. Sc. CLV, p. 1010, 1912 et Bull. Soc. Pharmacie de Bordeaux, LV, p. 75, 1917.

COMPOSITION DU REIN DE PORC
POUR 100 gr. D'ORGANE SEC

Eau distillée (H^2O	9,1
Cendres solubles	2,54
Cendres insolubles	2,92
Cendres totales	5,46
Alcalinité (en Co^3Na^2)	0,45
Chlorure de Sodium (Nacl)	0,90
Oxyde de Sodium (Na^2O)	1,28
» » Potassium (K^2O)	1,55
» » Calcium (CaO)	0,041
» » Magnesium (MgO)	0,170
» » Manganèse (MnO^2)	0,00166
» » Fer (Fe^2O^3)	0,1080
» » Cuivre (CuO)	0,0094
» » Zinc (ZnO)	0,03282
» » Nickel (NiO)	0,000317
» » Cobalt (CoO)	0,000406
» » d'Arsenic	traces
» » Titane (TiO^2)	0,0011
Acide Sulfurique (SO^4H^2)	2,136
Acide Phosphorique (Po^4H^3)	3,180
Acide Chlorhydrique (ClH)	0,564
Acide Bromhydrique (BrH)	0,0019
Acide Jodhydrique (JH)	néant

DOSAGE DES LIPIDES

Sous le nom de lipoïde ou lipide, on désigne toutes les substances que l'on peut extraire des humeurs et des tissus (animaux et végétaux) par les solvant habituels des graisses: éther, chloroforme, benzène, alcool etc. C'est donc une définition purement physique qui ne correspond pas à un groupe chimique bien déterminé, groupe impor-

tant, cependant, par ses propriétés physiologiques. Ces corps sont extrêmement répandus dans les tissus et dans les humeurs. André Mayer et G. Schæffer (51) ont montré que le rapport de cholestérine aux acides gras où coëfficient lipocytique est caractéristique de l'organe considéré, et que la teneur d'une même substance en acide gras et cholestérine varie peu, de sorte qu'il y a une *constante lipocytique*. Il nous a paru intéressant de rechercher quelle était la tenuer de notre échantillon en acides gras et en cholestérine. Pour cela nous avons suivi la technique de Lameland (52). Cette méthode consiste essentiellement à épuiser la matière par de l'alcool bouillant dans le but de dissoudre les lipoïdes, puis à déterminer quantitativement les proportions des parties insaponifiables et saponifiables que la substance renferme:

Nous avons opéré sur 4 à 5 gr. de poudre.

A. — EPUISEMENT PAR L'ALCOOL
à 95° dans l'appareil de Kumagawa-Suto.

Les travaux antérieurs faits par plusieurs auteurs en particulier par MM. Inaba (53), Terroine (54), Lobstein (55), ont prouvé que l'appareil

(51) Mayer A. et Schæffer G. — Recherche sur la teneur des tissus en lipoïdes. Journ. de Physiologie et Pathologie générale, 1913, XV, p. 510, 534 et 775.

(52) Lameland M. P. — Recherches chimiques et physiologiques sur les matières grasses et les lipoïdes du sang. Bull. Soc. Chim. Biol. 1921, III, p. 163 et dito 1923, V. p. 111.

(53) Inaba. — Biochem. Zeitschr. 1908, t. 7, p. 348.

(54) Terroine F., Lesage G., Vehot G. et Wolff H. — La détermination des matières grasses dans les produits végétaux. Annales de falsification 1927, p. 793.

(55) Lobstein E. — Recherches biochimiques sur le Bacille tuberculeux. Thèse Doct. ès-Sc. Strasbourg, 1922.

des chimistes japonais Kumagawa-Suto procure la méthode la plus exacte pour enlever les lipides aux tissus d'animaux, de microorganismes, et des végétaux.

En effet la cartouche qui renferme la poudre à épuiser est placée directement dans les vapeurs mêmes du solvant, et l'épuisement se fait donc sensiblement à la température d'ébullition de celui-ci.

La poudre est placée dans la cartouche d'un appareil de Kumagawa-Suto, et macérée dans l'alcool à 95° à froid pendant 12 heures, puis épuisée par l'alcool à 95° bouillant pendant 8 heures. La durée du chauffage est largement suffisante car au bout de 4 heures l'alcool obtenu par siphonage était décoloré, et après 6 heures ne laissait aucune trace de résidu après évaporation.

Les solutions alcooliques sont réunies, évaporées sous pression réduite en s'aidant du vide à une température ne dépassant pas 60° dans un ballon à fond rond de grande capacité. Au moment où il ne reste plus dans le ballon que 4-5 cm^3, on interrompt l'évaporation et on introduit dans le ballon 10 cm^2 d'alcool absolu, en rinçant le col et les parois; on refait le vide et à ce moment seulement, on plonge le ballon dans l'eau bouillante en agitant constamment; en 2-3 minutes, on obtient un résidu très sec et formant une mince couche sur les parois du ballon. L'extrait alcoolique est de couleur brune.

B. — SAPONIFICATION DE L'EXTRAIT ALCOOLIQUE

Ce dernier est traité dans un ballon extracteur par 25 cm^3 de potasse alcoolique 2N et chauffé pendant 24 heures au réfrigérant à reflux sur un bain de sable. On cesse de chauffer, et on abaisse le titre

alcoolique à 50° environ, en ajoutant 20 cm^3 d'eau distillée. On chauffe de nouveau jusqu'à clarification complète et on laisse refroidir.

C. — EXTRACTION DE L'INSAPONIFIABLE

On fait passer tout le liquide dans une ampoule à décantation, et on rince le ballon rigoureusement avec de l'alcool à 50°. La solution est épuisée à 3 reprises avec de l'éther de pétrole à P. E. inférieur à 70° en utilisant succesivement: 100, 75 et 50 cm^3 de solvant. L'insaponifiable total passe dans l'éther de pétrole et les savons restent dans la solution hydroalcoolique. On laisse reposer après chaque agitation et on recueille les solutions éthérées dans une autre ampoule, où on les lave avec 100 cm^3 d'eau distillée. Pour cela on n'agite que très légèrement, pour éviter la formation d'émulsions. L'eau est séparée et ajoutée à la solution hydroalcoolique pour éviter toutes pertes d'acide gras. La solution éthérée est distillée à sec au B. M., dans le vide à une température inférieure à 50° et on reprend le résidu avec l'éther de pétrole anhydre P. E. inférieur à 50°. On filtre sur amiante dans un petit vase taré, pour séparer les impuretés, évapore dans le vide, à 50° jusqu'à poids constant. Cet insaponifiable total est constitué par la cholestérine et les lipides insaponifiables.

D. — RECHERCHE ET DOSAGE DE LA CHOLESTERINE.

Pour caractériser la cholestérine dans l'insaponifiable, nous avons utilisé les réactions suivantes effectuées sur une solution chloroformique de cet insaponifiable.

1. — *Réaction de Hager-Salkowski.*

On met dans un tube à essai 2-3 cm³ de solution chloroformique. Au moyen d'une pipette effilée, on fait tomber au fond du tube 1-2 cm³ d'acide sulfurique concentré: en présence de cholestérine, il se forme un anneau rouge à la surface des deux liquides. Par agitation le chloroforme se colore en rouge-cerise, et une fluorescence verte apparaît dans l'acide sulfurique.

2. — *Réaction de Liebermann, Burchard.*

Dans un tube à essai on verse 5 cm³ de solution chloroformique, 1 cm³ d'anhydride acétique 3 gouttes d'acide sulfurique concentrée; on agite: en présence de cholestérine, il se forme peu à peu une coloration bleue qui passe au vert.

Ces deux réactions ayant donné des résultats positifs, nous avons procédé au dosage de la cholestérine.

DOSAGE. — Nous avons préféré au dosage colorimétrique de Grigaut (56); basé sur la réaction de Liebermann, par la méthode pondérale de Windaus, plus précise, basée sur la formation de complexe Digitonine-Cholestérine.

L'insaponifiable est dissous dans 10 cm³ d'alcool absolu, on fait bouillir une minute et on ajoute 15 cm³ d'une solution de digitonine à 1% dans l'alcool absolu (57), on porte à nouveau à l'ébullition

(56) Dosage colorimétrique de la cholestérine. Journ. Pharm. et Chim. 1914, 7e série, p. 146.

(57) D'après Lameland, la quantité de digitanine employée doit toujours être en excès. Les quantités que nous indiquons permettent de précipiter 45 mgr au maximum; 2° l'alcool filtré es recueilli pour récupérer la digitonine.

encore une minute, on ajoute 2 cm^3 d'eau distillée, ce qui abaisse le degré alcoolique entre 95 et 90° ; on fait bouillir encore une minute (il se forme un précipité blanc, qui toutefois peut n'apparaître qu'à froid). Le précipité blanc ainsi formé est recueilli sur un filtre, après un repos de 24 heures. On le lave plusieurs fois à l'alcool à 95°, puis avec de l'éther anhydre, on sèche à l'étuve jusqu'à poids constant, et on pèse. En multipilant par 0,2431, on obtient le poids de cholstérine contenu dans la prise d'essai.

E. — *Extraction des acides gras et dosage du saponifiable.*

Le liquide hydroalcoolique qui reste après la séparation de l'insaponifiable est acidulé par de l'acide chlorhydrique étendu au 1/3, en présence de tournesol comme indicateur. Les acides gras ainsi libérés se trouvent dans une solution alcoolique dont le titre a été abaissé par l'acide et l'eau à 25° environ, passent facilement dans l'éther de pétrole à P. E. inférieur à 70° ; on fait trois épuisements, successivement par 100 cm^3, 75 cm^3 et 50 cm^3 de solvant. Puis les extraits éthérés sont lavés avec précaution à l'eau distillée pour enlever l'acide entraîné, et évaporés à siccité dans le vide. Le résidu est repris par l'éther de pétrole à point d'ébullition de 50°, on filtre dans un petit ballon taré, on évapore dans le vide. On sèche dans le vide à la température de 50° jusqu'à poids constant. On a ainsi le poids d'acides gras.

Caractères des acides gras. — On procède aux déterminations suivantes:

1° *Point de fusion* (déterminé au moyen d'un tube effilé) = 41,1.

Indice d'Iode (*méthode d'Hübl*). Cet indice exprime le poids d'Iode que l'on peut, dans les conditions déterminées fixer sur 100 gr. de corps gras, en présence de chlorure mercurique. La détermination se fait par comparaison avec un témoin ne contenant pas de corps gras.

La différence entre le volume V et V' d'hyposulfite employé dans le flacon témoin et dans celui qui contenait la matière grasse, exprimé en centimètres cubes et multiplié par 0,0127 gr. représente la quantité d'Iode fixé par l'essai; si P est le poids de celui-ci en grammes, l'indice d'iode sera donné par la formule:

$$\frac{V-V'}{P.} \times 0{,}0127 \times 100$$

Indice d'Iode trouvé: 63.

Indice de saponification ou Indice de Köttstorfer.

On appelle indice de saponification d'une matière grasse le poids d'hydrate de potasse exprimé en milligrammes nécessaire pour saturer les acides gras de 1 gramme de matière grasse.

Une quantité connue de matière est pésée dans un ballon on y ajoute parties égales de solution alcoolique normale de potasse et d'alcool à 95°. Le ballon relié à un réfrigérant à reflux est chauffé au B. M. pendant une heure. On laisse refroidir et on titre l'alcali demeuré libre au moyen d'une solution normale d'acide chlorhydrique.

Dans une autre fiole on fait un essai comparatif sans matière grasse. Par différence entre les deux résultats, on obtient le nombre de cm^3 de la

solution normale de potasse nécessaire pour saturer les acides gras. Ce nombre n donne l'indice cherché au moyen de la formule:

$$I = \frac{n \times 56,1}{P}$$

Indice de saponification trouvé: 220.

Indice d'acidité.

Il indique le nombre de milligrammes d'hydrate de potasse qui peuvent saturer les acides gras libres de 1 gramme de substance. Un poids connu (P) d'acides gras a été dissous dans de l'alcool neutre et l'acidité a été dosé au moyen d'une solution de potasse N/10 en présence de phénolpthaléine. La formule $\frac{N \times 28,2}{P}$ donne l'indice de l'acidité exprimé en acide oleïque pour 100 gr. de substance examinée.

Indice d'acidité trouvé: 26,5.

Nous résumons dans le tableau ci-dessous les résultats obtenus pour les lipides sur 100 gr. de poudre de rein:

Acides gras (saponifiable)	4,25	%
Insaponifiable (cholestérine + insaponifaible non déterminé)	1,45	%
Extraits totaux	5,70	%
Cholestérine	0,066	%
Indice d'iode	63	
Indice de saponification	220	
Point de fusion des acides gras	41,1	
Indice d'acidité	26,5	

RECHERCHE DE GLUCIDES.

Le terme Glucides désigne le groupe des substances qui comprend les sucres réducteurs non hydrolysables et les substances qui donnent par hydrolyse un ou plusieurs de ces sucres réducteurs. (Definition internationale).

Nous avons cherché les glucides dans notre poudre de rein par les méthodes connues.

La recherche de sucres réducteurs nous a donné des résultats négatifs. Ensuite nous avons recherché les pentoses et les hexoses. Pour cela nous nous sommes servis des méthodes classiques comme suit:

Réaction de Bertraud, Réaction de Molisch } Recherche de Pentosse et des hexoses

Réaction de Berg, Réaction de Tollens et Rossive } Recherche des sucres aldéhydiques

Réaction de Sélivanoff, Récation de Rosenthaler } Recherche de sucres cétoniques

Formation d'osazone.

Nous n'avons eu que des résultats négatifs.

RECHERCHE DE L'INOSITE.

L'Inosite se rapproche des sucres proprement dits non seulement par sa formule brute mais encore par ses allures générales au cours des réactions

physicochimiques et biochimiques. A. Cloëta (58) et Klein I. H. (59) ont constaté sa présence dans le rein frais du bœuf. Il était intéressant de rechercher et d'identifier ce cyclohexaalcool, soit par la réaction de Scheerer modifié par Meillère (60) (formation d'acide rhodizonique sous l'influence de l'acide azotique, et transformation en rhodizonate terreux de coloration caractéristique) soit par la réaction de Gallois (formation de rhodizonate de Mercure sous l'influence d'azotate de Mercure.)

Nos essais ne nous ont donné que des résultats négatifs. Nous estimons donc que notre échantillon de rein ne contient pas l'Inosite. Si l'Inosite se trouve dans le rein frais du porc il est possible qu'elle soit hydrolysée à la suite de la préparation et de la conservation de l'extrait.

RECHERCHE ET DOSAGE DES PROTIDES.

Le terme protide désigne le groupe qui comprend les acides aminés naturels et les substances qui donnent par hydrolyse, un ou plusieurs de ces acides aminés (définition internationale). Ils sont les principes fondamentaux de toute cellule vivante, se rencontrent, plus ou moins différenciés, dans tous les tissus et dans presque tous les liquides de l'organisme.

---

(58) A. Cloëta. — Ueber das Vorkommen von Inosit in tierischen Körpern. Liebigs Annalen der Chemïe und Pharmacie, 1856.

(59) Klein. I. A. — Vorkommen und Herkunft von Inosit im Thierkörper. Th. Doct. Méd. 1909. Giessen.

(60) Meillère. — Contribution à l'étude de l'Inosite; par M. G. Meillère. Journ. Ph. et Ch. 1906 (6) 24, p. 245.

Recherche qualitative.

Nous nous nommes efforcé de déterminer les principaux groupes auxquels appartiennent les protides contenus dans la poudre de rein, en nous basant sur leur solubilité dans divers liquides d'extraction. Nous avons employé successivement l'eau distillée, une solution aqueuse de chlorure de sodium à 1%, et une solution aqueuse de potasse à 2‰. Dans l'eau pure passent les albumines, dans l'eau salée passent les globulines, dans l'eau alcaline passent les alcali-albumines les nucléo-albumines et les glycoprotéides. Nous avons opéré de la manière suivante: nous avons fait macérer dans 25 cm^3 d'eau distillée 5 gr. de la poudre de rein à la température ordinaire. Après un contact de 24 heures et de nombreuses agitations nous avons essoré à la trompe et filtré ce macéré.

Le résidu est mis en contact avec 25 cm^3 d'eau distillée pendant 12 heures. On agite à maintes reprises, puis on essore, et filtre. Les deux macérés réunis forment l'extrait A. Les deux résidus insolubles sont traités chacun successivement par 25 cm^3 d'une solution aqueuse de chlorure de sodium à 10%; les extraits salés sont réunis et composent l'extrait B. Ce nouveau résidu est épuisé à deux reprises par 25 cm^3 d'une solution de potasse à 2‰. Après 12 heures de contact, agitation et filtration, les filtrats sont réunis en extrait C.

Nous donnons ci-dessous les réactions que nous avons obtenues avec ces divers extraits.

1° Extrait A (eau pure).

Réactions de précipitation.

A. — Par les réactifs des alcaloïdes:

1) Chlorure mercurique 1/20: précipité;

2) Ferrocyanure de potassium + acide acétique: précipité qui s'accentue et se prend en grumeaux en chauffant;
3) Réactif Iode-ioduré (Bouchardat): précipité abondant brun-rouge;
4) Acide picrique: précipité léger;
5) Acide silicotungstique + acide (R. Bertrand); précipité abondant;
6) Acide phosphotungstique: précipité abondant;
7) Iodure de mercure et de potassium (Tanret-Meyer): précipité abondant.

B. — Par les sels métalliques:
Sulfate de cuivre: précipité;
Acétate de cuivre: léger précipité;
Acétate de plomb: fort précipité blanc.

C. — Par les dissolvants neutres (alcool): Louche.

D. — Coagulation par les acides minéraux à froid: acide azotique: précipité.

E. — Coagulation par la chaleur en milieu acide acétique: Coagulation.

F. — *Réactions de coloration:*

1) Réaction xanthoprotéique (noyau aromatique): positive;
2) *Azotate* mercurique (réactif Millon) (Tyrosine): positive;
3) Réaction du soufre (Cystine): positive;
4) Réaction furfurique (Liebermann): positive;
5) Réaction du Biuret: positive.

2° **Extrait B (eau salée).**

Les diverses réactions données par l'extrait A ont été positives, sauf la réaction de Millon qui est empêchée par la présence du chlorure de sodium.

3e Extrait C (Eau potassique).

Les réactifs des alcaloïdes, qui n'agissent (sauf le réactif de Tanret) qu'en milieu acide, ne peuvent être utilisés, l'addition d'un acide produisant à elle seul un précipité abondant. Toutes les autres réactions précédentes données par l'extrait A, ont été positives.

L'extrait C peut contenir des alcali-albumines, des nucléo-albumines et des glycoprotéides. Pour distinguer entre ces trois sortes de matières albuminoïdes, on traite la solution alcaline par de l'acide acétique au dixième. Il se forme un précipité.

1° Une partie de ce précipité délayé dans de l'eau distillée est chauffée à 120-130° à l'autoclave, on ajoute de la potasse jusqu'à réaction très légèrement alcaline et l'on fait réagir cette dernière sur la liqueur de Fehling.

La formation d'un précipité rouge-orangé d'oxyde cuivreux est l'indice de la présence d'un glycoprotéide.

2° Une autre partie du précipité est desséchée à l'étuve, puis mélangée avec 5 fois son poids d'un mélange d'azotate et de carbonate de sodium. On calcine dans un creuset, on laisse refroidir, on traite le résidu par de l'acide azotique dilué, employé en quantité suffisante pour dissoudre complètement le résidu. La solution azotique est enfin traitée par du molybdate d'ammonium; s'il se forme en chauffant un louche ou un précipité jaune, c'est qu'il y a dans la prise d'essai des nucléo-albumines.

3° Si le précipité ne donne ni la réaction des glycoprotéides ni celle des nucléo-albumines, c'est que ce précipité est constitué par les alcali-albumines.

La recherche de glycoprotéides a été négative, tandis que celles des nucléo-albumines et alcali-albumines a donné des résultats positifs.

En résumé, les réactions indiquées sur les extraits A, B, C, nous permettent de conclure que *la poudre de rein renferme des albumines proprement dits, des globulines, des alcali-albumines et des nucléo-albumines.*

DOSAGE D'AZOTE TOTAL.

Microdosage d'Azote.

Pour le dosage d'azote total nous avons utilisé la méthode de Kjeldahl qui consiste essentiellement dans la transformation des matières albuminoïdes en ammoniaque, donnant avec de l'acide sulfurique de sulfate d'ammoniaque, dans lequel il est facile de doser l'ammoniaque, et du poids d'ammoniaque trouvé on déduit le poids de l'azote.

Divers auteurs ont proposé d'ajouter à l'acide sulfurique des corps dits adjuvants à la réaction, dont le rôle est de faciliter la réaction.

Parmis ces corps les uns ont la propriété d'élever la température par exemple sulfate de Potassium. D'autres sont oxydants p. ex. Permanganate de Potassium, acide Perchlorique etc... d'autres sont des réducteurs p. ex. mercure, etc...

Nous avons voulu nous rendre compte de l'influence des divers adjuvants et nous faisons connaître les résultats de nos expériences.

Dans les solutions de sulfate d'ammoniaque obtenus par les divers techniques, l'azote a été dosé en utilisant le microdosage d'après la technique de Pregl perfectionnée par Parnas Wagner. D'après

Nicloux «la technique de Pregl est la plus séduisante de toute la microanalyse: simple, rapide, précise n'exigeant pas nécessairement l'emploi de la microbalance, une mesure de volume pouvant y suppléer, telles sont ses caractéristiques » (61).

On opère sur 5 cm^3 de solution de sulfate d'ammoniaque. L'ammoniaque est dégagé par 3 cm^3 de lessive de soude à 36° B et entraîné par un courant de vapeur d'eau, puis reçu dans 20 cm^3 d'acide sulfurique N/70.

Le titrage en retour se fait au moyen de la soude N/70 après avoir au préalable chauffé doucement le vase contenant l'acide sulfurique, afin de chasser CO^2,dont la présence fausserait les résultats.

Indicateur coloré: rouge de méthyle (acide paradimethylazobenzénorthocarbonique) en solution à 0,02 gr. dans 100 cm^3 d'alcool à 90°.

1 cm^3 SO^4H^2 N/70=1 cm^3NaOHN/70=0,0002d'azote

Nous avons ainsi fait trois destructions avec la poudre de rein et pour chacune des méthodes employées. Nous avons effectué sur chacune des solutions cinq microdosages et nous avons pris la moyenne des résultats trouvés.

Le temps nécessaire pour la destruction de la matière organique par les diverses techniques (le temps compté étant celui nécessaire pour l'obtention d'un liquide incolore) et la quantité d'SO^4H^2 combiné sont indiqué dans le tableau ci-dessous:

---

(61) Nicloux. — La microanalyse organique quantitative. Bull. de la Société chimique de France, 1924, t. 35 à 37, p. 1041-1067.

Méthode de destruction	Durée moyenne de la destruction	SO^4H^2 N/70 neutralisé en cm^3	Azote correspondant en gr pour 100 gr de poudre
$SO^4H^2 + Hg$	3 h	12,44	9,95 %
$SO^4H^2 + SO^4Cu$	3 h 15'	12,75	10,2 %
$SO^4H^2 + SO^4Hg$	1 h 55'	12,432	9,94 %
$SO^4H^2 + SO^4Mn$	3 h 50'	12,335	9,86 %
$SO^4H^2 + SO^4Fe$	2 h 40'	12,43	9,944 %
$SO^4H^2 + ClO^4H$	0 h 45'	9,0	7,2 %
$SO^4H^2 + (COOK)^2$	3 h 25'	12,47	9,976 %
$SO^4H^2 + (COOH)^2$	2 h 20'	12,372	9,898 %
$SO^4H^2 + SO^4Cu + SO^4K^2$	3 h 20'	13,15	10,52 %

Des résultats obtenus nous pouvons tirer les conclusions suivantes:

La solution sulfo-perchlorique séduisante par sa brièveté nous a donné des résultats inférieurs, notons toutefois que par le procédé Lematte (acide sulfurique avec l'acide perchlorique) le processus de destruction des matières organiques est considérablement réduit pour une même prise d'essai. Il n'est donc pas à rejeter *à priori* et peut être d'un grand secours, lorsqu'on veut opérer une rapide destruction organique; mais par contre les résultats sont beaucoup inférieurs à ceux donnés par les autres méthodes.

Les autres catalyseurs n'étaient guère, pour ainsi dire que des «trompe l'œil» qui facilitaient beaucoup plus la décoloration du mélange, que la transformation de l'azote en ammoniaque.

Seul le mélange d'acide sulfurique avec du sulfate de cuivre et du sulfate de potassium, ce dernier adjuvant jouant le rôle d'un élévateur de température nous a donné des résultats les plus satisfaisants en rendement d'ammoniaque.

D'où viennent les écarts en azote pour cent observés entre les diverses méthodes?

On peut émettre les hypothèses suivantes:

D'abord l'emploi d'un oxydant trop énergique peut occasionner d'importantes pertes d'ammoniaque, dues également à un dégagement d'azote gazeux. Ensuite il peut arriver que le corps azoté se dégage en nature du sein de l'acide chaud, et qu'il échappe partiellement de ce fait à l'attaque sulfurique.

Enfin il y a de nombreuses molécules dont l'azote n'est transformé qu'avec difficulté en ammoniaque (62).

DOSAGE DE L'AMMONIAQUE.

L'ammoniaque est déplacée des solutions ammoniacales par une solution de carbonate de lithium qui ne met en liberté, que l'ammoniaque provenant de sels ammoniacaux.

Nous avons suivi la méthode de Yovanovitch (63).

L'ammoniaque est entraînée par un courant de vapeur d'eau produit dans le vide à la température de 40 à 50°, et captée par une solution d'acide sulfurique N/70 en excès. Après avoir chauffé pour chasser l'acide carbonique, on titre l'excès d'acide sulfurique par de la soude N/70 en se servant de rouge de méthyl comme indicateur.

Nous avons opéré sur 10 cm^3 de solution de sulfate d'ammoniaque.

---

(62) Mesterzat et M. Janet. — Présence dans l'urine d'un reste azoté, que ne dose pas la méthode de Kjeldahl. Bull. soc. chim. biol. 1921, t. 3, p. 88-94.

(63) Yovanovitch A. — Microdosage de l'ammoniaque. Bull. Soc. Chimie biol., 1925, VII, p. 665.

DOSAGE D'AZOTE SOLUBLE NON ALBUMINOÏDE.

Nous nous sommes servis de la méthode de Voït (64) basé sur ce fait que les matières albuminoïdes sont insolubles dans l'alcool à 78% saturé de sel à une concentration déterminée.

2 gr. de la poudre de rein sont placés dans une fiole jaugé de 250 cm^3, on ajoute 40 cm^3 d'eau distillée et 4 à 5 gouttes d'une solution de tropéoline 00. On verse de l'acide chlorhydrique goutte à goutte jusqu'à coloration rouge, puis 140 cm^3 d'alcool à 90°. On laisse reposer 6 heures et après on ajoute 5 cm^3 d'une solution de sulfate de soude à 20%.

On complète le volume à 250 cm^3 avec de l'alcool, on laisse reposer encore une heure en agitant de temps en temps. On filtre. Le précipité renferme des matières albuminoïdes; 50 cm^3 de liquide sont soumis à la Kjeldalisation, après avoir évaporé l'alcool dans le vide. On détruit les matières organiques avec un mélange d'acide sulfurique et comme adjuvants: le sulfate de cuivre et du sulfate de potassium et l'on dose l'azote soluble selon la méthode de Parnas et Wagner (65).

Cette méthode nous permet de calculer exactement les matières albuminoïdes:

---

(64) Voït E. — Ein Beitrag zur Bestimmung des Eiweiss-Stickstoffes. Zeïtschr. für Biologie, 1926, LXXXIV, p. 153.

Weber F. — Ueber eine Methode zur Bestimmung des Extraktiv-Stickstoffes. Zeitschr. für Biologie, LXXXIV, p. 168

(65) Parnas et Wagner. — Ueber die Ausführung von Bestimmungen kleiner Stickstoffmengen nach Kjeldahl. Bioch. Zeitschrift 1921, CXXV, p. 253.

Azote total — azote soluble = azote albuminoïde;
Azote albuminoïde×6,25 = matières albuminoïdes.

Voici les résultats obtenus:

Substances dosées	Pour 100.0 gr. de rein
Azote total	10,52 %
Azote soluble	2,6%
Azote albuminoïde	10,52 — 2,6 = 7,92%
Matières albuminoïdes	7,92 × 6,25 = 49,5%
Ammoniaque	2%

Remarques: 1° On voit souvent dans les travaux de dosage des protides la teneur en matières albuminoïdes exprimée, en multipliant l'azote total par 6,25. Ce chiffre est toujours trop haut parce que ce calcul de l'azote dans les matières albuminoïdes contient aussi de l'azote qui se trouve sous une forme non albuminoïde.

2° La distillation complète d'ammoniaque dans l'appareil Parnas Wagner demande 7 à 8 minutes et non 3 minutes comme l'indiquent plusieurs auteurs.

3° La distillation complète d'ammoniaque dans l'appareil Yovanovitch, demande 9 à 10 minutes et non 5 comme l'indiquent plusieurs auteurs, nous avons aussi remarqué que l'intensité d'arrivée de la vapeur d'eau change, selon les cas, le résultat en ammoniaque, et il est recommandé que le courant soit autant que possible régulier pendant toute la durée de la distillation.

RECHERCHES DES FERMENTS.

(diastases, enzymes)

«Les lois biologiques ne doivent plus être opposées aux lois qui régissent la matière inanimée; si, parfois, elle paraissent en désaccord avec ce que nous enseigne la physique ou la chimie, c'est qu'elles sont moins simples, qu'elles dépendent d'influences multiples et souvent opposées. Le mécanisme paraît différent parce qu'il est plus compliqué. De toutes les propriétés de la cellule, la fermentation a été considérée pendant longtemps comme spéciale ou spécifique».

C. Oppenheimer (66) définit les ferments d'une manière simple; une diastase c'est un catalyseur, c'est-à-dire une substance qui est capable d'accélérer, et non de provoquer une réaction qui ne serait produite que très lentement en dehors de sa présence. Les ferments agissent d'une manière spécifique, c'est-à-dire favorisent telle ou telle réaction chimique, ou même la transformation particulière d'un corps de structure bien déterminée. Nous savons aujourd'hui que l'analogie des ferments et des catalyseurs minéraux peut être poussée très loin et que le pouvoir fermentaire appartient à des substances minérales qui sont à l'état colloïdal.

I. Schæffer (67) résume la nature chimique des ferments par les faits suivants: «Les ferments sont des corps à poids moléculaire élevé, à l'état colloïdal, diffusant difficilement et donnant avec l'eau des hydrosols; électrolytes amphotères, ils contiennent

(66) Oppenheimer C. — Die Fermente und ihre Wirkungen, 1913, p. 15.

(67) Schæffer I. — Les ferments. Masson, éditeur, 1929, Paris. P. 21.

une fonction acide et une fonction basique et résultent de l'association d'un support colloïdal et de sels minéraux.»

«Les métaux colloïdaux préparés artificiellement jouissent de quelques propriétés diastasiques qui semblaient appartenir exclusivement aux produits élaborés par les cellules. Ce qui est encore plus curieux, c'est que ces mêmes métaux deviennent sensibles comme des cellules à l'action de poisons...

«Ainsi une substance minérale à la condition qu'elle se trouve en état colloïdal, peut acquérir certaines propriétés de la matière vivante, et comme elle se montrer sensible à l'action de poisons.»

Ainsi s'exprimait le Professeur H. Roger dans sa leçon d'ouverture des Cours de physiologie en 1926. Et dans la même leçon, ce savant faisait ressortir également l'importance de l'introduction en biologie de sciences physico-chimiques et l'utilité de ramener le phénomène vivant à des lois simples exprimées par des formules mathématiques.

Les recherches poursuivies sur les ferments ont permis de faire rentrer dans le groupe des processus physico-chimiques, une série de phénomènes autrefois rattachés à une influence vitale.

Elles ont ainsi exercé sur les conceptions biologiques une influence considérable et ont abouti à des résultats qui intéressent également les physiologiste et le médecin, la bactériologue, le botaniste, le chimiste et l'agriculteur.

Pendant longtemps une distinction avait été établie entre les ferments figurés et les ferments solubles. La première dénomination s'appliquait à des êtres vivants, (bactéries, levures ou champig-

nons) ayant le pouvoir d'agir sur les matières organique en les transformant pour les faire servir à leur nutrition. On prétendait expliquer leur action par un processus vital et on les opposait aux ferments solubles, matières organiques élaborées par des êtres vivants agissant comme des catalyseurs, c'est-à-dire, excerçant une action de présence et provoquant des transformations profondes sans perdre de leur substance.

Cette conception dualistique a été préjudiciable aux progrès, et doit être définitivement abandonnée. Car les ferments figurés n'agissent que parce qu'ils renferment des ferments solubles.

C'est d'ailleurs une loi générale: Les cellules vivantes manifestent leur action par les produits qu'elles renferment et sécrètent. Que de tels produits de sécrétion apparaîssent dans le suc digestif, dans le sang ou plus généralement dans une partie quelconque de l'organisme, qu'ils se détachent de cellules seulement après leur mort, comme par exemple les ferments des leucocytes, des bactéries ou des levures comme par exemple l'alcoolase de Büchner, ou qu'ils restent en quelque sorte fixés aux éléments cellulaires si une intervention étrangère: modification de la tension superficielle, autolyse ou simple action mécanique ne se produit pas, il n'en est pas moins vrai que toute fermentation est toujours l'œuvre d'un seul et même agent, le ferment, qui se forme toujours de la même manière et qui se comporte toujours d'une façon identique, qu'il fasse ou non partie indivisible d'un substratum protoplasmique. Et c'est pourquoi la classification arbitraire en endo- et exœnzymes ne semble pas mériter d'être retenue.

Mais pourquoi le comportement des ferments liés aux organismes vivants semble-t-il si différent des ferments isolés, à la fois plus irrégulier et plus complexe qu'eux?

Les recherches modernes ont bien montré quelle importance l'on doit accorder au degré de pureté des ferments, si l'on veut pénétrer plus avant dans le mécanisme de leur action. On conçoit grâce à ce fait que, puisque les impuretés constitués par une faible quantité de substances protéïques ou d'électrolytes liés au ferment, suffisent à modifier les effets observés, le substratum complexe des organismes vivants doit intervenir très énergiquement pour modifier ou masquer les réactions des ferments qu'ils contiennent.

D'autre part, un ferment n'existe jamais seul dans un organisme, puisque la cellule vivante la plus simple contient déjà plusieurs ferments; si l'on songe aux interdépendances de ces ferments, aux actions réciproques qu'ils peuvent exercer l'un sur l'autre, à la variatabilité des circonstances de leur entrée en jeu, à la complexité des réactions intermédiaires, on ne peut s'attendre qu'à des manifestations extérieures très différentes.

C'est vraisemblablement à ces raisons qu'il faut attribuer le fait, que ces agents aient été si longtemps divisé soit en ferments figurés et en ferments solubles d'une part, soit en ferments endo et exocellulaires, d'autre part. La, comme dans bien d'autres questions biologiques controversées, il ne s'agit que de différence de degré, peut être aussi d'adaptation à un but différent, suivant la conception d'Oppenheimer.

N'est-il pas nécessaire, en effet, que les ferments digestifs, qui doivent agir sur des complexes alimentaires colloïdœxogènes et non diffusibles, puissent venir directement en contact avec ces matériaux, tandis que les ferments du métabolisme, agents de la nutrition élémentaire, n'ayant à remplir qu'un rôle intra-cellulaire, n'agissent que dans le milieu intra-cellulaire.

Par suite du progrès des sciences physico-chimiques, l'étude des fermentations a pris un nouvel essor et toute une série de nouvelles théories ont été émises.

Ce serait sortir du cadre de cette étude que d'aborder tous les problèmes que soulève l'étude des ferments. Retenons simplement que l'action des ferments excercée sur les quatre grands groupes des composés organiques: matières grasses, glycides, lipides, protides est souvent reversible: et que par conséquent toutes ces manifestations rentrent dans le groupe des phénomènes d'équilibre chimique. Leur pouvoir n'a rien de mystérieux. Les ferments permettent simplement la manifestation de certains phénomènes physico-chimiques dans des conditions de temps et de température, ou, sans leur intervention, rien ne se serait produit. En contact avec la matières fermentescible les ferments la transforment et cette dernière se fait avec tant de régularité, qu'on a pu la représenter par une courbe géométrique fort simple.

L'acide chlorhydrique, par exemple, est capable d'hydrolyser à haute température les protéïnes et de les transformer en protéoses. La chlorhydro-pepsine de l'estomac ne fait rien de plus. Mais elle rend possible la transformation à la température du corps.

Quant aux ferments oxydo réducteurs, le chauffage quelque soit la température de l'expérience, à condition que le ferment ne soit pas détruit, ne parvient jamais à supprimer les fonctions réductrices des tissus. C'est que deux facteurs interviennent: l'un chimique *thermostabile;* l'autre biologique *thermolabile;* le premier n'agit rapidement qu'à une température élevée. Le second par lui-même inactif, lui rend la transformation possible à une température plus basse.

La matière organique est la partie active en raison de son état colloïdal et de son association avec des métaux qui sont eux-mêmes à l'état colloïdal. Le support organique qui est le plus souvent de nature protéïque peut aussi appartenir au groupe des glycides ou des lipides, comme l'a démontré le Professeur H. Roger.

Ainsi les études poursuivies sur les ferments établissent la complexité de leur action. En même temps, elles éclairent bien des points obscurs de la physiologie et nous préparent à mieux comprendre un grand nombre de faits pathologiques.

Voilà pourquoi tous ceux qui s'intéressent aux problèmes biologiques, ne peuvent laisser de côté l'étude des ferments.

CLASSIFICATION GENERALE DES FERMENTS.

La découverte des ferments d'origine diverse, des comportement variable, d'activité plus ou moins grande, devait naturellement conduire à répartir ces corps dans des groupes déterminés indiquant à la fois leurs analogies et leurs différences. Aussi les essais de classification furent-ils très nombreux;

remarquons, cependant, que l'on a pu adopter une classification définitive et qu'il y a encore, entre les auteurs des divergences assez grandes sur les principes mêmes de cette systématisation; on conçoit, évidemment, que seule la connaissance exacte de l'action de ces agents apportera la solution de ce problème.

Indiquant dans leurs grandes lignes, les conceptions de l'Ecole Française formulés par G. Bertrand et de l'Ecole Allemande d'après Euler, on pourra établir la base de la classification.

I. Les HYDROLASES d'Oppenheimer, ou ferments hydrolysants, les plus répandus, agissant en fixant l'eau sur les éléments, tout comme l'eau surchauffée, les alcalis ou les acides; ce processus, généralement reversible aboutit à l'établissement d'un équilibre indépendant de la température.

D'après la nature chimique des substrats attaqués, ces ferments se divisent de la façon suivante:

A. — **Les ferments de glucides, comprenant:**

1° Les *Polyases,* divisées d'après la nature du sucre formé à l'hydrolyse en:

a) ferments des dextrosanes: *amylase, cellulase;*

b) ferments des fructosanes: *inulase, sucrase* ou *saccharase;*

c) ferments des manno-galactanes: *hémicellulases* ou *cytase;*

d) ferments des arabo-galactanes: *pectase;*

e) ferments des xylanes;

f) à ce groupe se rattachent les *nucléases* libérant des acides nucléïques le d-ribbose.

2° *Les ferments de glucosides,* comprenant:

a) les ferments des hologlucosides: α-glucosidases (*maltase, tréhalase*) et β-glucosidases (*cellobiases*); *α-galactosidase et β-galactosidases (lactase);*

b) les ferments des hétéroglucosides: *émulsine* (amygdaline transformé en glucose, acide cyanhydrique et benzaldéhyde).

B. — **Les ferments de lipides comprenant:**

1° Les *lipases* animales et végétales dissociant les glycérides en glycérine et acides gras.

2° Les *phosphatases* libérant des phosphatides: les alcools et l'acide phosphorique.

3° La *chlorophyllase,* la *tannase,* la *phytase* et les *sulfatases.*

C. — **Les ferments de protides et leurs dérivés.**

D'une façon générale les ferments des protides scindent les molécules entre l'azote et le carbone, alors que les lipases détachent des molécules les restes oxygénés. Suivant les conceptions actuelles les ferments de Protides comprennent:

1° Les *protéases: peptase* ou *pepsine* (protéines ⟶ albumoses + polypeptides); *tryptase* ou *trypsine* (protéïnes, polypéptides ⟶ peptides, acides aminés); *papaïne* (protéïnes ⟶ polypeptides).

2° Les *peptidases* ou *éreptases* attaquant le groupement CO-NH (polypeptides ⟶ acides aminés).

3° Le *lab-ferment* ou *chymase.*

4° La *thrombase,* dont l'existence en tant que ferment est douteuse (Rettger).

5° Les *amidases: uréase* (urée ⟶ carbonate d'ammonium); *arginase* (arginine ⟶ urée + ornithine); *hippuricase* (acide hippurique ⟶ glycocolle + acide benzoïque) et *guanase.*

II. — Les **Clastases** ou *Desmolases* de Neuberg et Oppenheimer, ferments cellulaires du métabolisme comprenant les agents de fermentation lactique et alcoolique.

Les *zymases* qui provoquent la désagrégation des sucres en alcool éthylique et gaz carbonique, seraient constituées par plusieurs ferments, en particulier une *aldéhydrase* ou *aldéhydomutase,* ferment oxydant, et une *carboxylase* libérant le gaz carbonique.

Les *purinedéhydrases* oxydent la xanthine en formant de l'acide urique qui, oxydé à son tour, forme l'allantoïne.

III. — En outre de ces deux principaux groupes et se rapprochant du deuxième, les *oxydases* oxydent certains phénols en donnant des quinones.

Plus douteuses, sont les *peroxydases.*

A ce groupe se joignent les *tyrosinases* qui oxydent la tyrosine, acide aminé phénolique, en formant des pigments noirs; et la *catalase.*

IV. — A ces groupes il y aurait lieu d'ajouter les ferments des synthèses ou *synases* de G. Bertrand, représentés par la phosphatèse d'Euler qui d'après Embden Brogh, favoriserait la formation, à partir de l'acide lactique, du lactacidogène ou acide hexose diphosphorique composé intermédiaire du métabolisme des glucides dans le muscle.

On pourrait également admettre l'existence *d'isomérases* activant les réactions d'isomérisation extrêmement fréquentes: transformation d'un sucre, glucose ou maltose en ses isomères s'effectuant au cours des réactions de la dissociation des polyoses.

LES FERMENTS DES GLUCIDES.

AMYLASE.

Sous le nom d'amylase on désigne un ensemble de ferments qui agissent sur l'empois d'amidon en le dédoublant en dextrine et en maltose ou en glucose.

L'étude de l'hydrolyse fermentative par la réaction d'adsorption de l'iode et par la réduction de la liquer de Fehling a permis de ranger de la manière suivante les phases successives de la dissociation amylolytique:

Réaction à l'iode	Réduction de la liqueur de Fehling	Phases
+ coloration bleu	0	Amidon
+ coloration violette	0	Amido + amylodextrines
+ coloration rouge-brun	0	Amidon + érythrodextrines
—	+	Achrodextrines + maltose

Ainsi, on admettait l'apparition des produits intermédiaires: les dextrines, puis finalement la formation de maltose, capable d'être transformée dans certains cas en glucose par un nouveau ferment: *la maltase.*

Ferment universellement répandu, non seulement dans l'appareil digestif, où elle est particulièrement abondante, mais aussi dans tous les organes et même dans toutes les cellules: rate, rein, foie, cerveau, nerfs, ovaire, hypophyse, vagin, glande mamaire, lymphe etc.

On l'avait même signalé dans la peau des grenouilles, du porc, du poulet, du chat, du cobaye et de l'homme. Chez l'homme et le singe, seule la salive est très riche en amylase (Ptyaline).

Chez les omnivores, seule la salive du porc renferme ce ferment.

Les carnivores et les herbivores en sont dépourvus, de même les rongeurs (lapin). Cependant on admet sa présence dans la salive du rat et de la souris.

Donc seulement chez l'homme, le singe et le porc, il y a digestion buccale de l'amidon. Chez les herbivores la digestion des amylacées s'opère grâce à la haute teneur des aliments végétaux en amylase, qui est donc exclusivement exogène. L'amylase se trouve également chez certaines levures, moisissures, bactéries, protozoaires, mollusques, vers parasites et beaucoup de végétaux. Se trouve aussi dans le lait de femme, d'ânesse et dans l'urine.

Nous avons pu confirmer l'existence de l'amylase dans la poudre du rein, provenant du porc.

Comme pour l'extraction avec la solution physiologique de chlorure de sodium beaucoup de matières qui donnent la réaction du Biuret passent dans l'eau, nous avons essayé de séparer les diastasse de ces éléments par une précipitation avec une solution colloïdale d'oxyde de fer, (Fe^2O^3) à 5% (Ferrum dialysatum Siegfried A. G.) (68).

---

(68) Préparation du fer dialysé.

Pour la préparation de l'oxyde de fer, pour la désalbumination des liquides biologiques, nous recommandons le mode opératoire indiqué par Fabre et Pénau. (Fabre R. et Pénau H. Sur un procédé de dialyse rapide et son application à la préparation de l'oxyde de fer dialysé. Journ. Pharm. et Chim. (8) 1926, III, p. 100).

Ils se sont servi d'un dialyseur rotatif, décrit par MM. Astruc et Canals (A. Astruc et Canals E. — Sur un dialyseur rotatif. Journ. Pharm. et Chim. (8) II Juillet 1925) assurant l'agitation du liquide à purifier. 100 cm^3

Nous avons suivi la méthode de W. Löb et S. Guttman (69). Ces auteurs démontrent que le pouvoir amylasique de filtrat augmente avec la quantité croissante de solution de fer. Mais si le filtrat ne montre plus la réaction du Biuret, chaque addition de cette solution colloïdale fait décroître le pouvoir amylasique des filtrats.

Nous avons opéré de la façon suivante, et directement sur la poudre du rein. (Löb et Guttman pour les recherches ont isolé les ferments. Nous n'avons pas trouvé leur méthodes opportunes car il faut supposer que la concentration des différents ferments dans l'organe est grande. En présence des quantités relativement petites de ferments, un essai peut échouer sans que l'on puisse affirmer que le ferment en question manque totalement dans le rein.)

Nous ajoutions donc 2 cm^3 de la solution colloïdale d'oxyde de fer à 10 cm^3 de filtrat provenant de la solution centrifugée, après une macération de 12 heures avec la solution physiologique, et 1 cm^3 d'une solution de sulfate de magnésie à 0,5 gr %, et 7 cm^3 d'eau distillée. Le filtrat était légèrement jaune et complètement limpide. 10 cm^3 de ce filtrat ont été mélangés avec 40 cm^3 d'une solution d'empois d'amidon à 0,5%, et 1% de

---

de perchlorure de fer officinal sont additionnés petit à petit de 40 gr. de bicarbonate de potasse, pulvérisé suivant la méthode prescrite. On dialyse contre l'eau bidistillée pendant trois jours en remplaçant l'eau toutes les 3 ou 4 heures. On obtient ainsi en quelques jours une solution diluée de fer colloïdal contenant environ 1 gr. 25% d'oxyde de fer ($Fe_2 O_3$).

(69) Löb et S. Guttman. — Zur Kenntnis der Enzyme der Ovarien. Bioch. Zeitschr. 1912, 41, p. 445.

toluence. Nous avons fait agir ce mélange à l'étuve à 37° pendant 24 heures. En même temps nous avons pratiqué des essais de contrôle une fois en remplaçant l'empois d'amidon par l'eau distillée et une autre fois sans l'extrait du rein dans les mêmes conditions. Nous avons pu constater la formation des sucres réducteurs tant par la liqueur cupro-alcaline, que par la formation d'osazone. Pour le dosage nous avons filtré 5 cm^3 et avons appliqué la méthode de réduction bien connue de G. Bertrand (70) au dosage de petites quantités de sucre.

Nous nous sommes servis du reste de la solution pour la recherche des osazones. Pour 10 cm^3 du filtrat de la solution venant de l'étuve à 37° nous ajoutions 0,25 gr du chlorhydrate de phenylhydrazine et 0,5 gr. d'acétate de sodium. Nous chauffions 1 heure au B. M. bouillant. La formation d'osazone nous donnait après refroidissement une image claire, et même quantitativement appréciable du pouvoir amylasique.

Tous les essais ont été exécutés en série. Nous donnons le résultat pour chaque essai sans faire le calcul pour la quantité de poudre du rein mise en œuvre.

Composition des mélanges:

Flacon A: solution d'empois d'amidon à 5% 40 cm^3, extrait de rein 1/20 10 cm^3, Toluène 0,5 cm^3.

Flacon B: eau distillée 40 cm^3 extrait de rein 1/20 — 10 cm^3. Toluène 0,5 cm^3.

Flacon C: solution d'empois d'amidon 40 cm^3, eau distillée 10 cm^3, Toluène 0,5 cm^3.

(70) G. Bertrand. — Le dosage de sucres réducteurs. Bull. Sc. Pharmacol. 1907, page 7.

Résultat:	Oxyde cuivreux en grammes	Formation d'osazone
Flacon A:	0,0311	Abondante
Flacon B:	0,0003	rien
Flacon C:	0,0015	rien

Ces résultats nous démontrent *que la poudre de rein contient de l'amylase.* Enfin pour avoir une idée approximative de la teneur de la poudre de rein en amylase, nous nous sommes servi de la méthode de Wohlgemuth (71) 1 gr. de la poudre a été trituré avec 30 cm³ d'une solution à 0,9 gr. % de chlorure de sodium, pendant une heure. Après centrifugation nous recueillons 20 cm³ du liquide.

0,04 cm³ de ce filtrat parfaitement limpide dilué avec de l'eau pour avoir 10 cm³, ont suffi pour saccharifier 5 cm³ d'empois d'amidon en 24 heures à la température de 37°.

Le pouvoir diastasique est donc $D^{24\text{ heures}}_{37^\circ} = 625$

Cette quantité en amylase est relativement petite si l'on considère le résultat obtenu dans les mêmes conditions avec le pancréas qui est 215.000 en 24 heures (72).

MALTASE.

Le Maltose, formé par l'amylase, s'est donc dédoublé en donnant du glucose, et cela grâce à un autre ferment *la maltase.*

Pour confirmer sa présence nous avons utilisé la méthode biochimique.

---

(71) Wohlgemuth J. — Über eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des diastatischen Ferments. Bioch. Zeitschr. 1908, IX, p. 1.

(72) W. Löb et S. Guttman. — l. c. Bioch. Zeitschr. 41, 1912, p. 445.

Le filtrat d'une macération aqueuse de poudre de rein a été additionnée de 0,5 gr. de maltose et l'ensemble a été porté à l'étuve à 37° durant 24 heures.

Ce temps écoulé l'osazone a été préparée. Son point de fusion était 227°; de plus traitée par le procédé de Grimbert (73) elle ne paraissait être seulement formée que de glucosazone non souillée de maltosazone. Concluons donc à la présence de *maltase* à côté d'amylase, hydrolysant le maltose en deux molécules de glucose.

GLYCOGENASE.

Musculus et Von Mehring (74) ont trouvé que l'amylase agit de la même façon sur l'amidon et sur le glycogène. On pouvait donc s'attendre à un résultat positif dans la recherche de la *glycogénase*. Nous avons mené les essais de la même façon que pour l'amylase en remplaçant l'amidon par le glycogène. Nous nous sommes rendu compte que la poudre de rein contient de la glycogenase c'est-à-dire peut hydrolyser le glycogène.

Voici nos résultats:

Composition des mélanges.

Flacon A: extrait de rein 1/20 10 cm^3, glycogène 0,2 gr., eau distillée 40 cm^3, toluène 0,5 cm^3.

Flacon B: extrait de rein 1/20 10 cm^3, eau distillée 40 cm^3, toluène 0,5 cm^3.

(73) Journal Pharm. et Chim. (6), T. XVII, p. 225.

(74) Musculus et von Mehring. — Ueber die Umwandlung von Stärke und Glycogène durch Diastas, Pancreas, Speichel und Leber ferment. Zeitschr. für physiol. Chem. 1879 II, page 403.

Flacon C: eau distillée 50 cm³, glycogène 0,2 gr., toluène 0,5 cm³.

Résultats:	Cu_2O en grammes	Formation d'osazone
Flacon A:	0,0215	abondante
Flacon B:	0,0005	rien
Flacon C:	0,014	rien

On peut conclure à la présence de la *glycogénase* dans notre poudre de rein.

RECHERCHE DE L'INULINASE.

Ce ferment a le pouvoir de transformer l'inuline en fructose. Il se trouve dans certaines moisissures, dans les Penicillium et Aspergillus Niger, également dans certains insectes et certaines familles de végétaux, par exemple les Composés, Lobéliacés etc... Dans le placenta de l'homme (75).

L'inuline appartien aux hydrates de carbone difficilement attaquables comme l'on démontré les recherches de Komanos (76), Richaud (77), Portier et Bierry (78).

Nous avons utilisé la même technique que pour l'amylase, mais l'inuline étant très peu soluble est difficilement attaquable, nous avons donc prolongé

(75) Walther, Löb et S. Higuchi. Biochem. Zeitschr. 22, 1909, p. 316 à 336.

(76) Komanos. — Ueber die Verdauung des Inulins und seine Verwendung bei Diabetes mellitus. Th. Méd. Strasbourg 1875.

(77) Richaud. — Sur quelques points relatifs à l'histoire biologique de l'inuline chez les animaux. C. R. Soc. Biol. 1900, VII, p. 416.

(78) Portier et Bierry. — Recherche sur l'influence de l'alimentation, sur les sécrétions diastasiques. C. R. Soc. Biol. LIII, p. 810.

le temps d'action à l'étuve de 3 à 5 jours. Nous n'avons pas réussi à obtenir d'osazone, cependant il nous semble d'avoir pu constater la présence des traces d'Inulase.

Voici nos résultats:

Composition des mélanges.

Flacon A: Extrait de rein 1/20 10 cm³, inulin 0,5 gr., eau distillée 40 cm³, toluène 0,5 cm³.

Flacon B: Extrait de rein 1/20 10 cm³, eau distillée 40 cm³, toluène 0,5 cm³.

Flacon C: Inulin 0,5 gr., eau distillée 50 cm³, toluène 0,5 cm³.

Résultats:

	Cu_2O en grammes	
	après 3 jours	après 5 jours
Flacon C:	0,0185	0,0192
Flacon B:	0,0005	0,00055
Flacon A:	0,0155	0,0160

Ces chiffres nous démontrent que le pouvoir inulasique de la poudre de rein est extrêmement faible et même douteux.

SUCRASE

(Invertine, Invertase, saccharase, citrocymase).

La *sucrase* dédouble le saccharose en d-glycose qui dévie à droite la lumière polarisée, et en d-fructose avec une déviation polarmétrique à gauche. Comme cette dernière déviation est plus forte, le mélange est levogyre. C'est le sucre interverti.

La *sucrase* est assez répandue et est secrétée par la levûre de bière, par de nombreux organismes inférieurs p. ex.: Aspergillus, Penicillium, Mucor etc... et certaines bactéries.

Elle intervient nécessairement dans l'utilisation de sucre par la plante, ainsi s'explique-t-on qu'elle soit extraordinairement répandue dans tous les organes de végétaux.

Se trouve également dans la salive, dans le suc de la muqueuse intestinale, dans le placenta de l'homme (79).

Absente chez les Bovidés elle se rencontre généralement chez les autres vertébrés dans tout l'intestin car on a pu la déceler encore dans toutes les parties du colon. Certains auteurs ont encore voulu admettre sa présence dans l'autolysat du cerveau.

Nous l'avons recherchée et *nous pouvons confirmer sa présence dans notre poudre de rein.*

Composition des mélanges.

Flacon A: Extrait de rein 1/20 10 cm³, Saccharose 0,25 gr. eau distillée 50 cm³ toluène 0,5 cm³

Flacon B: Saccharose 0,25 gr. eau distillée 50 cm³, toluène 0,5 cm³

Flacon C: Extrait de rein 10 cm³ eau distillée 40 cm³ toluène 0,5 cm³

Résultats:

Oxyde cuivreux en grammes

	après 1 jour	après 3 jours	après 5 jours
Flacon A:	0,0055	0,018	0,0205
Flacon B:	0,004	0,0041	0,00415
Flacon C:	0,0003	0,0003	0,0005

(79) Walter, Löb et S. Higuchi. — l. c.

RECHERCHE DE LA LACTASE.

C'est un ferment spécifique qui agit sur le lactose en le dissociant en une molecule de glucose et une de galactose.

Nous avons recherché la lactase en faisant digérer la poudre de rein sur une solution de sucre de lait à 1% à la température de 37°. Nous n'avons pu constater d'action (par l'examen au polarimètre) même en prolongeant nos expériences pendant 4 jours.

D'un autre côté nous avons fait sur le filtrat desalbuminé des essais avec la levure, pour savoir s'il y a du sucre fermentecible. Ces essais également ont été négatifs. *Nous n'avons donc pas de lactase dans notre poudre de rein.*

GLYCOLASE.

Cette enzyme peut décomposer les dextroses et les levuloses. Il nous semblait intéressant de faire des recherches à ce point de vue. *Nous avons eu des résultats positifs, en utilisant l'action d'oxydants;* car d'après Löb (80) c'est une condition nécessaire à la glycolyse normale. Nos essais ont été menés avec de l'eau oxygénée. Nous en avons ajouté en quantité telle, qu'il en reste encore en excès bien qu'elle se décompose en partie, par le catalase qui existe dans notre poudre de rein. Pour éviter l'acidification du milieu résultant de produits d'oxydation de glucose, nous avons ajouté au commencement du carbonate de calcium precipité.

(80) Löb W. — Beiträge zur Glycolise. Biochem. Zeitschr. XXIX 1910, p. 316.

Voici les résultats obtenus:

Composition des mélanges:

(laissés à l'étuve pendant 48 heures à 37°).

Flacon A: Poudre de rein 1 gr. Eau oxygénée à 3% 25 cm³, solution de glucose à 2% 25 cm³. Carbonate de calcium 0,5 gr. tulène 1 cm³

Flacon B: Poudre de rein 1 gr. solution de glucose à 2% 25 cm³. Carbonate de calcium 0,5 gr. toluène 1 cm³

Flacon C: Eau oxygénée à 3% 25 cm³, solution de glucose à 2% 25 cm³. Corbonate de calcium 1 gr.

Résultats:	*Vol. prélevé p. le dosage*	*Cu_2O en gr.*
Flacon A:	10 cm³	0,07
Flacon B:	5 cm³	0,078
Flacon C:	10 cm³	0,192

AMYGDALASE OU EMULSINE.

C'est le ferment des hétéroglucosides qui dédouble l'amygaline en acide cyanhydrique, glucose et benzaldéhyde.

On le rencontre dans les levures, dans certaines bactéries et certaines végétaux, chez les animaux inférieurs et dans quelques organes d'animaux supérieurs.

Pour le rechercher dans notre poudre de rein, un macéré de celle-ci a été additionné d'amygdaline et porté à 37°.

Un papier picro-sodé de Guignard, placé dans l'atmosphère du ballon, hermétiquement fermé, permettait de reconnaître la présence d'acide cyan-

hydrique prenant naissance par hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine. Le papier a rougi, par suite de formation d'acide iso-purpurique.

En l'absence d'amygdaline, la poudre a donné des résultats négatifs.

Certains auteurs prétendent que la formation d'acide cyanhydrique est due à d'autres agents, surtout des microorganismes.

D'après nos résultats, il est possible de conclure à la *présence probable et l'émulsine* dans notre poudre de rein.

SALICASE.

Ferment qui hydrolyse la salicine en glucose et en saligenine. On le rencontre chez certain végétaux. Puis dans le foie et le rein du cheval, bœuf, porc, lapin etc... Dans le placenta de l'homme (81).

Nous avons pu confirmer sa présence dans notre poudre de rein de porc. Dans la flacon A, nous avons mélangé: 1 gr. de poudre avec 50 cm^3 d'eau distillée, puis un gramme de salicine et quelques gouttes de toluène.

Dans le flacon B, nous avons mis le même mélange mais sans ajouter de salicine.

Dans le flacon C, nous avons mis seulement 1 gr. de salicine dans 50 cm^3 d'eau distillée; le tout a été porté à l'étuve à 37° pendant 48 heures. Tous les trois filtrats ayant été bouillis avec de la liqueur de Fehling, seul le filtrat du flacon A, donne un abondant précipité d'oxydule de cuivre; les deux autres filtrats nous donnaient des résultats négatifs. *Nous pouvons donc conclure à la présence de la salicase.*

(81) S. Higuchi. — Biochem. Zeitschr. 17, 21-67, 1909.

HELICASE.

Ce ferment hydrolyse l'hélicine en glucose et aldéhyde salicylique. On le rencontre chez différents animaux inférieurs et insectes, dans certains organes de l'homme et d'animaux, par ex. dans le rein et le foie du lapin et du chat, dans le rein du chien (82) et dans la placenta chez l'homme (83).

Nous avons pu confirmer sa présence dans notre poudre de rein; nos essais ont été mené de la même façon que pour la salicase, en remplaçant la salicine par l'hélicine.

Seule le flacon qui contenait la poudre et l'hélicine donnent une réaction positive par le réactif de Fehling. La poudre sans l'hélicine, et l'hélicine seule ont conduit à des résultats négatifs. *Cela permet de conclure à la présence de l'hélicase.*

ARBUTASE.

Ce ferment dédouble l'arbutine en glucose et hydroquinone. On le rencontre chez certains végétaux et insectes; dans le foie et le rein du lapin, du chat et du chien; dans le poumon et dans la rate du chat (84) et dans le placenta de l'homme (85).

Nous avons pu confirmer sa présence dans notre poudre de rein du porc. Nos essais ont été menés de la même façon que pour la salicase en remplaçant la salicine par l'arbutine.

---

(82) Grisson. — Inaugural Dissertation Rostock, 1887. Grisson. — l. c.

(83) S. Higuchi. - l. c.

(84) Grisson. — Inaugural Dissertation Rostock, 1887.

(85) S. Higuchi. — Biochem. Zeitschrift 17, 1909, p. 21-67.

Seulement le flacon qui contenait la poudre et l'arbutine donnait le précipité d'oxydule de cuivre par la liqueur de Fehling, tandis que la poudre sans arbutine, et l'arbutine seule donnaient des résultats négatifs. *Cela permet de conclure à la présence de l'arbutase.*

NUCLEASE.

Ce ferment dédoublent les nucléo-albumines en deux molécules de pentoses, en bases puriques et bases pyrymidyques et en acide phosphorique.

On le rencontre dans beaucoup de champignons inférieurs, dans des bactéries, chez les végétaux et dans différents organes de l'homme et des animaux. Pour le rechercher nous avons suivi la méthode suivante: 2 gr. de poudre de rein ont été agités avec 50 cm^3 d'une solution de chlorure de sodium à 0,9% pendant une heure sur la machine à agiter. Après avoir centrifugé le mélange, nous l'avons filtré. 10 cm^3 de cet extrait ont été mélangés avec 10 cm^3 d'une solution à 2% de nucléate de sodium et 0,25 cm^3 de toluène. D'autre part nous avons mélangé 10 cm^3 de l'extrait de rein préalablement porté à l'ébulition pour détruire les ferments soupçonnés, avec la même quantité de nucléïnate de sodium.

Nous avons porté les deux essais à l'étuve à 37° pendant 48 heures. Après la digestion, les mélanges ont été bouillis, acidulés avec de l'acide acétique et additionnés de chlorure de sodium. On a ainsi désalbuminé les extraits. On filtre, on lave soignement les précipités, et on dose l'acide phosphorique dans les deux filtrats à l'état de phos-

phate ammoniaco-magnésienne, qui est ensuite calciné et pesé à l'état de pyrophosphate de magnésie. Voici nos résultats calculés en P^2O^5:

Mélange bouilli au préalable : (ferment détruit)	0,0173
Mélange non bouilli :	0,0269

Etant donné la différence sensible entre ces chiffres en P^2O^5 dosé, *nous concluons à la présence d'une nucléase dans notre poudre de rein.*

LES FERMENTS DES LIPIDES.

Par suite des notions récemment acquises sur les lipides, le cadre des lipases proprement dites c'est considérablement élargi (86). Il comprend actuellement en outre des lipases, les ferments des glycérides, les ferments qui dissocient les éthers gras supérieurs, et les éthers de la cholestérine.

Enfin il convient d'y ajouter les ferments mal connus qui dissocient les éthers de la lécithine et des autres phosphatides: la phosphatase, la chlorophyllase, la tannase et la sulfatase.

Nous nous sommes limités à la recherche de la lipase, de la lécithase et de la phosphatase.

LIPASE.

C'est un ferment soluble qui hydrolyse les éthers de la glycérine, et les dédouble en glycérine et acides gras.

Pagenstecher (87) a fait des analyses détaillées des différents tissus et a donné les chiffres suivants: augmentation de l'acidité après la digestion

(86) Schæffer. — l. c.

(87) Pagenstecher A. — Das Vorkommen von Lipasen in Geweben. Biochem. Zeitschr. XIIX, p. 285, 1908.

d'huile d'olive: calculée en soude décinormale pour dix grammes de matière sèche:

Viande	3,6	Poumon	10,9	Foie	21,6
Cerveau	8,4	Rein	20,3	Rate	29,7

Nous avons fait des *essais qui permettaient de confirmer la présence d'une* lipase *dans la poudre de rein.*

Nous nous sommes servis d'une solution acqueuse de monobutyrine à 1%.

Nous avons dosé l'acide butyrique mis en liberté selon la méthode de Hanriot et Camus (88).

Comme pour les recherches précédentes, nous avons préparé un extrait de poudre de rein en faisant macérer notre produit avec de l'eau distillée, de préférence avec la solution physiologique de chlorure de sodium. Après une centrifugation d'une demi-heure, nous avons filtré. Selon les indications, nous avons laissé digérer pendant 24 heures à 37°. Voici les résultats en cm^3 de soude décinormale en prenant la phénolphtaléine comme indicateur:

Composition des mélanges.

Flacon A: Extrait de rein 1/20 10 cm^3 — monobutyrine à 1% 10 cm^3, toluène 0,25 cm^3

Flacon B: Extrait de rein 1/20 10 cm^3 — eau distillée 10 cm^3, toluène 0,25 cm^3

Flacon C: Monobutyrine à 1% 10 cm^3 — eau distillée 10 cm^3, toluène 0,25 cm^3 (titré de suite, après le mélange).

Flacon D: Monobutyrine 10 cm^3 — eau distillée 10 cm^3, toluène 0,25 cm^3.

(88) Hanriot et Camus. — Sur le dosage de la lipase. C. R. Acad. Sc. 1879 — 124, p. 235.

Résultats:	*Soude décinormale en cm³*
Flacon A:	1,80
Flacon B:	0,8
Flacon C:	0,27
Flacon D:	0,31

LECITHASE.

La présence de ferment a été constaté dans l'ovaire de porc (89).

Il nous semblait intéressant de savoir si notre poudre de rein de porc contient ce ferment dédoublant la lecithine.

Pour sa recherche nous avons préparé par trituration lente de 2 gr. de lecithine pure avec 200 gr. d'eau chaude une émulsion homogène et stable. Ensuite nous l'avons divisée en quantités égales dans différents petits flacons, suivant les indications ci-dessous; nous avons laissé également digérer l'émulsion avec, et sans eau distillée.

Nous avons titré l'acide formé avec la soude décinormale en présence de phénolphtaléine comme indicateur, après une digestion à l'étuve à 37° pendant 24 heures. *Les résultats qui sont positifs sont consignés dans le tableau ci-dessous:*

---

(89) W. Löb und S. Guthmann. — Enzyme der Ovarien. Biochem. Zeitschr. 41, 1912, p. 445.

Composition des mélanges		Soude decinormale nécessaire pour neutraliser
extrait de rein 1/20	10 cm³	
émulsion de lécithine	5 cm³	
toluène	0,2 cm³	1,60
extrait de rein 1/20	10 cm³	
eau distillée	5 cm³	
toluène	0,2 cm³	0,75
émulsion de lécithine	5 cm³	
(titré de suite)		0,32
émulsion de lécithine	5 cm³	
(après digestion 24 h.)		0,35
émulsion de lécithine	5 cm³	
eau distillée	10 cm³	
toluène	0,2 cm³	0,35

PHOSPHATASE.

Ce ferment libère les alcools et l'acide phosphorique des phosphatides. Husler (90) a trouvé chez le chat une *phosphatase* dont l'activité était très forte dans le rein, moins dans les poumons, très faible dans le foie et la rate, il manque dans le pancréas et les muscles. Il a observé le même phénomène chez l'homme, le taureau, le veau etc.

Umeno (91) constate que l'activité la plus forte et la plus rapide appartient à la phosphatase rénale chez les oiseaux. Elle est la plus faible chez les carnivores et chez les herbivores; dans les animaux

(90) Hussler. — Vorkommen einer Glycerophosphatase in tierischen Organen. Biochem. Zeitschr. 1912, 39, page 1.

(91) Humeno. — Studien über Phosphatase. Biochem. Zeitschrift 1931, 231, p. 347.

à sang froid l'activité est égale à celle du lapin. L'activité de la phosphatase rénale est donc très différente chez les divers animaux, et Umeno la classe dans l'ordre suivant:

Poule > chat > taureau > grenouille > lapin, etc.

Au cours des néphrites expérimentales l'activité de la phosphatase rénale diminue de moitié aux deux tiers par comparaison à l'activité normale.

Il nous a paru intéressant de rechercher ce ferment dans la poudre de rein.

L'extrait de rein a été préparé de la même façon que pour la nucléase.

Nous nous sommes servis de glycérophosphate de sodium sur lequel nous voulions constater l'action fermentaire.

10 cm^3 de filtrat de mélange sont traités comme pour la nucléase pour doser l'acide phosphorique libéré qu'on pèse à l'état de Pyrophosphate de magnésie.

Voici les résultats:

	3 jours (en $P^2O^7Mg^2$)	8 jours (en $P^2O^7Mg^2$)
Mélange bouilli	0,046	0,052
Mélange non bouilli	0,021	0,024
Différence	0,025	0,028

Etant donné la différence sensible en $P^2O^7Mg^2$ entre le mélange bouilli et non bouilli, *nous concluons à la présence de phosphatase dans notre poudre de rein.*

SALOLASE.

(Amylsalicylase)

C'est le ferment qui dédouble le salol en acide salicylique et Phénol.

On le rencontre dans le rein, dans le foie, dans la rate, dans le poumon, dans le cerveau etc... chez l'homme et certains animaux. Il était intéressant de savoir s'il existe dans notre poudre de rein.

0,5 gr. de poudre ont été mélangés avec 20 cm^3 d'eau distillée additionnée de 0,2 gr. salol et 10 gouttes de toluène.

D'autre part nous avons mélangé 0,5 gr. de poudre avec 20 cm^3 d'eau distillée. Nous l'avons porté à l'ébullition pour détruire les ferments soupçonnés. Après refroidissement nous y avons également ajouté 0,2 gr. de salol. Nous avons mis le tout à l'étuve pendant 48 heures. Après ce temps, nous avons defequé les deux filtrats avec du fer colloïdal et dans le filtrat nous avons cherché à caractériser le phénol et l'acide salicylique.

Résultats: filtrat non bouilli: réactions positives
filtrat bouilli (ferment détruit): réactions négatives.

Par suite nous concluons à la présence de salolase.

FERMENTS DE PROTIDES.

PEPSINE.

La pepsine, ainsi nommé par Scwann en 1836 est un ferment protéolytique qui dédouble les albuminoïdes par fixation d'eau. Les glandes gastriques secrètent une pro-pepsine qui se transforme en pep-

sine active par une acidité faible. Une question intéressante à ce sujet est celle du rôle de l'acide chlorhydrique. Est-ce un activateur s'unissant avec le ferment pour former une combinaison chimique définie l'acide pepsin-chlorhydrique des anciens auteurs?

Les recherches modernes ont montré que cet acide favorisait simplement l'action du ferment en déplaçant le milieu vers l'acidité de Ph du contenu gastrique.

On rencontre la pepsine chez les animaux supérieurs; d'après Bourquelot, elle existe à côté de la trypsine dans les glandes digestives de certains invertébrés, notamment des Céphalopodes.

On l'avait aussi signalée dans le lait de mammifères à côté d'autres enzymes. Il semble que l'existence de zymases protéolytiques doive même être généralisé, puisqu'on a trouvé des zymases de ce genre, actives en solution acide dans la rate, foie, rein etc... L'action protéolytique de la pepsine ne se produit qu'en milieu acide, l'acide d'élection étant l'acide chlorhydrique. Le dédoublement pepsique se ferait en plusieurs phases.

La première phase conduit à la formation de la syntonine ou parapeptone. Elle résulte de l'action de l'acide seul, et non point de celle de la pepsine.

Dans la seconde phase, la pepsine agissant sur la syntonine, fournit des albumoses ou propeptones.

Dans une troisième phase, l'albumose est dédoublé en peptones.

Contrairement à ce qu'on croyait autrefois, la dislocation de l'albumine sous l'influence de la pepsine ne s'arrête pas aux peptones. Quand l'action de ce ferment protéolytique est suffisamment prolongé et énergique, on peut aboutir aux polypeptides.

TRYPSINE.

La trypsine est un ferment protéolytique qui agit quelque soit la réaction du milieu, mais de préférence en milieu faiblement alcalin (entre 0,2 et 0,3% de carbonate de soude avec optimum vers 1%).

Très répandue dans le régne animal, elle agit avec beaucoup plus d'intensité sur les matières albuminoïdes, après les avoir transformées en peptone elle dédouble les polypeptides qui sont contenus dans ces peptones en produits abiuretiques, et en dernière analyse à des acides aminés.

Dosage des acides aminés libérés.

Les acides aminés matériaux élémentaires de la molécule protéique apparaissent à la fin du clivage de ces molécules. Ils apparaissent surtout après l'action de la trypsine.

Si l'on ajoute du formol à un liquide contenant un acide aminé, le formol réagit sur le radical $—NH^2$ et opère le «bloquage de la basicité».

La molécule prend alors un caractère acide, acidité mesurable au moyen de la soude.

Méthode de Sœrensen.

On prélève 10 cm^3 du digesté, on ajoute 10 cm^3 d'eau, puis 10 gouttes de solution de phénolphtaléïne, enfin de la soude à neutralisation. On ajoute alors 25 cm^3 de formol commercial exactement neutralisé. La coloration rose disparaît par suite de la libération des radicaux acides. On verse ensuite de la soude décinormale jusqu'à réapparition de la teinte rose. On note le volume N de soude versée. Les résultats s'expriment généralement en cm^3 de

soude décinormale employé. On peut également les exprimer en azote en appliquant la formule

$$0{,}0014 \times N \times V/10$$

N représentant le nombre de cm³ de soude versée après addition de formol et augmentés de 1/30, et V le volume total du digestat.

Technique.

On détermine le pouvoir digestif de ces deux ferments sur de la fibrine en milieu acide pour la pepsine, en milieu légèrement alcalin pour la trypsine.

POUR LA PEPSINE.

On charge 3 premiers flacons avec les mélanges suivants:

Flacon A: poudre de rein 0,6 gr. — acide chlorhydrique env. 3‰ 30 cm³, fibrine 1 gr.

Flacon B: fibrine 1 gr., pepsine 0,2 gr. — acide chlorhydrique environ 3‰ 30 cm³.

Flacon C: fibrine 1 gr., acide chlorhydrique 3‰ 30 cm³.

Avant d'ajouter le pepsine dans l'un, et la poudre de rein dans l'autre flacon, on le met au préalable à l'étuve à 50° pendant 1 heure environ en agitant de temps en temps, afin que la fibrine se gonfle.

POUR LA TRYPSINE.

Flacon D: fibrine 1 gr., carbonate de soude 1‰ 30 cm³, poudre de rein 0,6 gr.

Flacon E: fibrine 1 gr., carbonate de soude 1‰ 30 cm³, pencréatine 0,2 gr.

Flacon F: fibrine 1 gr., carbonate de soude à 1‰ 30 cm³.

On porte le tout à l'étuve à 50° pendant 36 h. en ayant soin d'agiter de temps en temps. Ce temps écoulé on filtre; sur les filtrats on pratique l'essai de la touche azotique et le dosage des acides aminés d'après la méthode de Sœrensen.

Les résultats positifs de nos essais sont consignés dans le tableau ci-dessous.

	Composition des mélanges		liquéfaction de la fibrine	touche azotique	NaOH N/10 pour 10 cm³ de digesté (méthode Sœrensen)
A	Poudre de rein HCl env. 3‰ Fibrine	0,gr6 30cm³ 1 gr	+	—	2,2
B	Fibrine Pepsine HCl env. 3‰	1 gr 0,gr2 30cm³	+	—	2,85
C	Fibrine HCl env. 3‰	1 gr 30cm³	—	+	1,40
D	Fibrine CO^3Na^2 1‰ Poudre de rein	1 gr 3cm³ 0gr6	+	—	4,8
E	Fibrine CO^3Na^2 1‰ Pancréatine	1 gr 30cm³ 0gr2	+	—	17,25
F	Fibrine CO^3Na^2 1‰	1 gr 30cm³	—	+	1,15

EREPSINE.

(Ereptase)

On la rencontre dans la levure de bière, chez différents Penicilliums, quelques Bazidiomycètes p. ex. Amanita Muscaria, Amanita citrina, Psalliota, campestris, etc... chez la Colibacille il est très répandu dans le règne végétal (céréales, légumineuses). Le ferment reste actif dans la graine même après 20 ans de conservation.

Dans l'hépatopancréas des céphalopodes, dans l'intestin et le suc intestinal du lapin, et du porc, il existe aussi dans l'intestin d'un Fœtus humain de 5 mois, dans presque tous les tissus des animaux vertébrés.

D'après Vernon (92), le rein, le Pancréas, l'intestin sont les plus riches en erepsine, après viennent la rate, et le foie, puis le cœur, les muscles, le squelette, et enfin le cerveau, et le sang.

Ce ferment attaque les groupements CO-NH et donne comme produits de dédoublement des Polypeptides et finalement des acides animés.

Pour la recherche de l'erepsine dans notre poudre du rein nous nous sommes servis de la méthode de Löb et Higuchi (93).

Nous avons agité 3 gr. de poudre de rein dans 300 cm^3 d'eau distillée pendant 2 heures à la machine à agiter. Après un repos de 12 heures et filtration, nous avons ajouté goutte à goutte au filtrat une solution d'acétate d'uranium à 1% aussi longtemps qu'un précipité se formait.

Ce dernier a été recueilli sur un filtre, lavé et dissous par addition lente d'une solution de carbonate de soude à 0,2%.

Le liquide a été soumis à une deuxième filtration après un repos de 12 heures. De la solution limpide nous avons prélevé 50 cm^3 et les avons mélangés avec 1 cm^3 d'une solution de peptone de Wite à 1%.

Ce mélange a été divisé en 5 tubes à essais. Nous avons partagé également une autre prise d'essai de

---

(92) Journal off. Physiol. 32, 33-50, 1904.

(93) Löb W. et Higuchi S. — Zur Kenntnis der Placentaenzyme. Biochem. Zeitschr. 1908, XXII, p. 316.

50 cm³ de la solution de carbonate de sodium en 5 tubes, mais sans addition de peptone.

Le tout a été placé à l'étuve à 38°. A intervalles déterminés, nous avons retiré un tube avec peptone, auquel nous avons ajouté de la soude concentré en excès et de la solution de sulfate de cuivre très diluée (réaction de Biuret).

Nous avons ajouté aux tubes à essais qui ne contenait pas de peptone de Wite 0,2 cm³ de cette solution à 1%, et avons pratiqué de la même façon la réaction de Biuret.

Cette comparaison nous permettait de constater la différence d'intensité de la réaction de Biuret, dans la solution essayée et dans la solution témoin, qui contenait encore toute la quantité de peptone dans le même état.

Nous avons pu ainsi constater nettement la présence de l'érepsine.

UREASE.

Le catalyseur intervenant dans la décomposition de l'urée a été découvert en 1874 par Musculus. Ce savant, en effet a constaté que l'urine ammoniacale filtrée et évaporée dans le vide, est capable, si on l'ajoute à de l'urée fraîche d'en provoquer la fermentation; on obtient, du reste un résultat analogue avec le produit obtenu en précipitant par l'alcool l'urine altérée, épaisse et filante. Musculus établit ainsi que la production de l'ammoniaque n'est pas due exclusivement au ferment figuré, et il admet qu'elle résulte de l'action d'une substance spéciale, de nature diastasique, dont le siège de sécrétion se trouverait, d'après lui, dans la vessie. On le voit,

tout en constatant la présence de l'enzyme, Musculus n'a pas saisi la relation entre le ferment figuré et la substance active qu'il venait de retirer. C'est Miquel qui a démontré définitivement que le ferment agissant sur l'urée est bien sécrétée par un microorganisme. Ce catalyseur spécial a été décrit d'abord sous le nom d'urase, puis sous celui de l'Uréase.

Kossowicz (94) a constaté la présence d'urease dans les moisissures; ainsi l'Aspergillus Niger, l'Aspergillus glaucus, le Penicillium crustaceum, le Mucor boidin et bien d'autres détruisent l'urée, avec formation d'ammoniaque.

Shibata (95) a retrouvé cet enzyme dans les champignons; enfin Emmerling et Reiser ont reconnu que le B. fluorescens liquéfaciens est capable aussi de transformer l'urée, en carbonate d'ammoniaque.

D'après Takenchi, l'Uréase se trouve également dans le règne végétal: les fèves de soja (glycin-hispida) germées contiennent un enzyme qui agit sur l'urée de la même façon que l'uréase microbienne.

La substance active peut-être extraite par une macération dans l'eau; 1 gr. de soja transforme ainsi, en 20 h., l'urée renfermée dans un litre d'urine. L'uréase de Soja agit exclusivement sur l'urée: elle est inactive sur d'autres combinaisons aminées et amidées. Au contraire, d'après quelques auteurs, l'uréase microbien contenu dans certains bouillons

---

(94) Kossowicz, cité par J. Effront. — Les catalyseurs biochimiques dans la vie et dans l'industrie. Paris, Dunod et Pinat, édit. 1914.

(95) Shibata, Emmerling et Reiser, Takenschi, cités également par Effront — l. c.

de culture, agirait aussi sur l'asparagine. Toutefois ce fait ne se retrouve pas avec l'uréase extraite par précipitation de ces liquides, et l'action observée sur les acides aminés, doit vraisemblablement être attribuée à l'intervention d'autres amidases accompagnant l'uréase.

On retrouve l'uréase aussi chez la bacille Coli, Proteus Vulgaris, différents Micrococcus et Urobacilles de Hansen, Schützenberger, Duclaux, Pasteur et Leubei (96).

Tanaka (97) a trouvé l'uréase dans la rate de Porc. Il était intéressant de le rechercher dans notre poudre de rein de porc. Pour cela nous avons chargé deux flacons avec les mélanges suivants:

Flacon A: Poudre de rein 1,5 gr., urée 0,25 gr., eau distillée 75 cm^3, toluène 0,5 cm^3.

Flacon B: Poudre de rein 1,5 gr., eau distillée 75 cm^3, toluène 0,5 cm^3.

Après un séjour à l'étuve de 2 jours à 5 jours, nous avons prélevé une partie du liquide. Sur 10 cm^3 de ce filtrat nous avons pratiqué le dosage d'ammoniaque dans l'appareil de Yovanovitz en défequant au préalable par le fer colloïdal. Voici nos résultats:

	$SO^4H^2N/70$ en Cm^3 nécessaire pour la neutralisation de l'ammoniaque	
	après deux jours	après 5 jours
Flacon A .	1,5	1,8
Flacon B .	0,55	0,61

(96) M. W. Beijerinck. — Centralbl. f. Bact. II, Abt. 7, 33-61, 1901.

(97) Tanaka Tanio. — Zur Kenntnis der Milzenzyme. Biochem. Zeitschr. 1911, 37, p. 249.

D'après les résultats obtenus en ammoniaque *nous pouvons conclure à la présence d'un ferment, transformant l'urée en carbonate d'ammoniaque dans notre poudre de rein.*

DESAMIDASE.

(Amidase)

Ferment dissociant l'asparagine, le glycocolle et autres acides aminés, en produisant de l'ammoniaque.

On le rencontre chez différents moisissures (Aspergillus Niger) dans les levures et dans les végétaux, surtout dans les parties en germination. Nous avons cherché ce ferment dans notre poudre de rein; nous avons disposé les essais de la même façon que pour l'uréase en remplaçant l'urée par le glycocolle.

Composition des mélanges:

Flacon A: Poudre de rein 1,5 gr., glycocolle 0,25, eau distillée 75 cm^3, toluène 0,5 cm^3.

Flacon B: Poudre de rein 1,5 gr., eau distillée, 75 cm^3, toluène 0,5 cm^3.

Résultats:

	$SO^4H^2N/70$ en Cm^3 pour la neutralisation de l'ammoniaque	
	après 3 jours	après 5 jours
Flacon A .	1,15	1,20
Flacon B .	0,65	0,68

Nous pouvons conclure à la présence de la désamidase dans notre poudre de rein, mais d'une assez faible activité.

ARGINASE.

Ce ferment transforme l'arginine en Urée et en acide diaminopentanoïque (ornithine).

Il a été découvert par Kossel aussi bien dans l'extrait de foie que dans les macérations intestinales.

On le trouve dans le foie, rein et thymus de veau, dans les muscles de chien, dans le tissu lymphatique du bœuf; le sang, la rate, la bile et le suc pancréatique du chien en sont dépourvus (98).

Nous avons cherché l'arginase dans le rein d'après la méthode suivante:

Dans un flacon A nous avons introduit: poudre de rein 1 gr., arginine 0,2 gr., eau distillée 50 gr.

Dans le flacon B: poudre de rein 1 gr., eau distillée 50 gr.

Le tout a été porté à l'étuve à 37° pendant 48 h. Ce temps de digestion écoulé, on procède à la filtration des deux contenus des flacons.

On prélève de chaque filtrat 30 cm^3 et on le chauffe. Les matières albuminoïdes coagulent. On ajoute à chaud 10 cm^3 d'une solution de l'acide phosphotungstique à 10%. On chauffe quelques minutes et on filtre.

Le précipité contient: les matières albuminoïdes et l'arginine non transformée. On filtre, on lave soigneusement le précipité. On reçoit le filtrat dans un ballon Kjeldahl et on procède à la destruction de matières organiques après avoir concentré le liquide autant que possible.

Quand le liquide dans le ballon est incolore, on transvase le tout dans une capsule en porcelaine où

(98) Kossel. — Zeitschrift physiol. chem. XLI, p. 321, 1904; XLII, p. 181, 1904.

l'on évapore l'excès d'acide. On étend ensuite jusqu'à 100 cm³ avec de l'eau distillée. On pratique le dosage d'azote dans l'appareil de Parnas-Wagner sur 5 cm³ de filtrat.

Résultats:

Le nombre de cm³ d'acide sulfurique N/70, nécessaire pour neutraliser l'ammoniaque formé est:

Flacon A ..... = 16,75 cm³

Flacon B ..... = 9,5 cm³

Ayant une telle différence entre les deux chiffres d'azote, nous pouvons conclure à la présence d'arginase dans notre poudre de rein.

HIPPURICASE.
(histozyme)

Ce ferment découvert par Schmiedeberg (99), qui le nomma histozyme, transforme l'acide hippurique en glycocolle et en acide benzoïque. Il a été trouvé dans le rein, dans le foie, dans les muscles, dans le placenta des mammifères.

Il se trouve également dans les moisissures, chez le genre Pénicillium.

Pour la rechercher nous avons suivi la méthode de K. Mæda (100): en dissolvant 0,4 gr. d'hippurate de sodium dans 20 cm³ d'eau distillée, nous y avons ajouté 1 gr. de poudre de rein en agitant fortement. Après avoir additionné de 2 à 3 cm³ de toluène nous avons mis le mélange pendant 3 jours à l'étuve à 38°. Ce temps passé, nous avons fait bouillir un

(99) Schmiedeberg. — Ueber Oxyd. und Synth. im Tierkörper. Arch. für experim. Pathol. 1881 XIV, 288, 379 cité par C. Oppenheimer l. c.

(100) Maeda K. — Fermente in der Placenta Biochem. Zeitschr. 1923, 143, p. 361.

instant, refroidi et déféqué au fer colloïdal. Le filtrat limpide a été légèrement acidulé par l'acide chlorhydrique et épuisé quelques fois dans une ampoule à décantation avec de l'éther de pétrole — (P. E. 60°). Les solutions réunies ont été filtrées et l'éther de pétrole évaporé dans le vide. Il s'est formé au fond de ballon des aiguilles blanches facilement reconnaissables au microscope; elles ont l'aspect de l'acide benzoïque. Le point de fusion démontre qu'il s'agit bien de ce dernier (120-121°). D'un autre côté nous avons fait digérer 0,4 gr. d'hippurate de sodium avec de l'eau et du toluène, sans poudre de rein puis nous avons suivi exactement le même procédé indiqué plus haut. Le résultat a été négatif. *Cela nous prouve la présence de l'hippuricase dans la poudre de rein.*

OXYDASES, PEROXYDASES ET CATALASES.

C. Oppenheimer a dit des oxydases qu'elles constituaient l'un des chapitres les plus délicats et les plus difficiles, de la chimie des ferments.

Les oxydases, oxydent certains phénols en donnant de quinones. Ces oxydases joueraient un rôle important dans la formation des pigments animaux à partir de diphénols. Remarquons que les éléments minéraux: fer (Warburg), manganèse (G. Bertrand), cuivre, semblent jouer un rôle fondamental dans ces oxydations, vraisemblablement par la formation des complexes intermédiaires (péroxydes métalliques) absorbant et restituant l'oxygène.

Ces éléments minéraux interviendraient donc d'une manière analogue à celle de l'hémoglobine et de la chlorophylle, et Y. Chæffer se demande s'il y a lieu de classer ces oxydases parmi les ferments.

Plus douteuses encore sont les péroxydases, décomposant le péroxyde (H^2O^2 en particulier) en libérant l'oxygène atomique actif, capable d'être ensuite fixé par des corps aromatiques (accepteurs); dont l'oxydation indirecte se manifeste par un changement de coloration.

La catalase qui décompose le péroxyde d'hydrogène H^2O^2 en H^2O et O moléculaire fonctionnant vraisemblablement comme accepteur d'H.

Schæffer prétend qu'il s'agirait dans ce cas d'une réaction de défense de l'organisme ayant pour but la destruction des péroxydes toxiques en excès.

Mais, d'après Wieland, les oxydations biologiques résulteraient indirectement de l'activation de l'hydrogène sous l'influence de l'action de certains ferments, les déshydrases ou réductases (Abelous et Gérard).

RECHERCHE DES OXYDASES (AEROXYDASES).

Nos avons fait nos essais avec un extrait de poudre de rein en faisant macérer pendant plusieurs heures 5 gr. de poudre dans 20 fois son poids d'eau. Après de fréquentes agitations nous avons filtré, et comme la coloration était assez foncée, un changement de couleur était difficile à apprécier. Pour cette raison, nous avons préparé un extrait plus clair et limpide en déféquant une partie de filtrat de la macération avec du fer colloïdal.

Il est très probable que les oxydases peuvent être modifiées; sinon éliminées en grande partie par suite de cette opération. Tous nos essais ont été menés avec ces deux extraits.

Nous indiquons les résultats obtenus dans le tableau suivant:

N°	Composition du mélange		Changement de couleur
	a) **Pyrogallase**		Les deux changaient
1	Extrait de rein 1 : 20	10 ccm	de corleur à peu près
	Pyrogallol 1%	1 ccm	en même temps.
2	Eau distillée	10 ccm	
	Pyrogallol 1%	1 ccm	
	b) **Adrenalase**		
1	Extrait de rein 1 : 20	10 ccm	
	Suprarenium hydrochroricum 1 : 1000	10 gouttes	dto
2	Eau distillée	10 ccm	
	Suprarenium hydrochloricum 1 : 1000	10 gouttes	
	c) **Tyrosinase**		
1	Extrait de rein 1 : 20	10 ccm	
	Tyrosin	1 ccm	dto
2	Eau distillée	10 ccm	
	Tyrosin		
	d) **Dyoxyphénylalaninase**		
1	Extrait de rein 1 : 20	10 ccm	
	Dioxyphénilalanine 1%	1 ccm	dto
2	Eau distillée	10 ccm	
	Tyrosine	1 ccm	

Sur une autre partie d'extrait filtré non déféqué au fer colloïdal, nous avons ajouté quelques gouttes d'une solution aqueuse de gaïacol à 1% ;

en comparant avec la même prise d'essai d'extrait sans gaïacol, aucun changement de couleur n'a eu lieu; donc *absence de l'oxydase.* Mais aussitôt que nous avons ajouté de l'eau oxygénée, une coloration rouge grenate intense apparût. Dans l'essai sans gaïacol la coloration n'apparaît pas et on voit une mousse abondante, indiquant la décomposition énergique de l'eau oxygénée. *On peut donc conclure à la présence de péroxydase et d'une catalase.*

La décomposition de l'eau oxygénée se produit plus fortement directement avec la poudre de rein.

Les péroxydases qui sont très répandues chez les plantes et dans les tissus animaux, sont très stables.

HYDROLASE (ALDEHYDASE).

Un ferment qui a été appelé Aldéhydase et qu'on a fait agir tout d'abord sur l'aldéhyde salicylique, a le pouvoir de transformer cette substance en acide salicylique et alcool salicylique. Il a donc le pouvoir d'oxyder et de réduire en même temps. On le rencontre en grande quantité chez les mammifères dans le foie, la rate, les poumons, en très petites quantités dans le sang, le rein, le pancréas et les muscles. On le trouve également dans le lait de vache; le lait de femme n'en renferme pas.

Nous avons fait digérer un gramme de poudre de rein avec 10 cm^3 d'eau distillée, en ajoutant 1 cm^3 d'aldéhyde salicylique, puis quelques gouttes de toluène, pendant 48 heures à 37°. Après ce temps, le mélange a été acidulé, légèrement bouilli et filtré. Le filtrat est concentré au B. M. à la consistance de sirop. On reprend par l'alcool à 96° et l'extrait est filtré. On évapore l'alcool, on reprend le résidu par l'eau et on épuise par l'éther. L'éther évaporée, on dissout le résidu dans l'eau et on caractérise l'acide salicylique par le perchlorure de fer. La réaction a été très légèrement positive.

La salicylase se trouve donc en très petites quantités dans la poudre de rein.

FERMENTS REDUCTEURS.

Tous les tissus renferment des ferments réducteurs aisément décelés par la méthode d'Ehrlich: le bleu d'alizarin est facilement réduit à l'état d'un composé incolore et redevient bleu par oxydation.

De même, le bleu de méthylène donne par réduction un léucodérivé.

H. Roger, étudiant le pouvoir réducteur des tissus, par cette méthode, a observé qu'ils se rangeaient dans l'ordre suivant:

Chez le chien : cerveau > rein > foie

Chez le cobaye et le lapin : foie > rein > cerveau

NITRASE.

C'est un ferment soluble réducteur qui réduit les nitrates en nitrites. Se trouve dans les levures, chez certaines bactéries, graminées et autres végétaux.

Les travaux de M. Armand Gautier ont établi en 1881 ces faits importants:

1° que les cellules de l'organisme animal vivent en partie anærobiquement et donnent naissance à des substances réductrices.

2° que le protoplasma de la plupart des cellules est réducteur et qu'on peut facilement à son contact durant la vie ou in vitro réduire des solutions étendues d'acide sulfindigotique et de sulfofuchsine, transformer les iodates et bromates alcalins en iodures et bromures etc...

Cette action réductrice est-elle suffisamment énergique pour réduire les nitrates en nitrites?

Ce pouvoir réducteur peut-il être attribué à un ferment soluble?

MM. E. Abelous et E. Gerard (101) ont élucidé ces questions en établissant l'existance dans l'organisme d'un ferment soluble réduisant les nitrates;

(101) MM. Abelous E. et Gérard E. — Sur la présence dans l'organisme animal d'un ferment soluble réduisant les nitrates. C. R. Acad. de Sc. 1899, 129, p. 56.

ce ferment est d'une activité inégale dans les différents organes. Ces auteurs examinant les organes du cheval on fait ranger cette activité d'après l'ordre décroissant:

Foie, rein, capsules surrenales, poumons, testicules, intestin, ovaire, pancréas, rate, muscles, cerveau etc...

Il était intéressant de rechercher le même ferment dans la poudre de rein du porc.

Nous avons fait une macération de 2 gr. de poudre de rein dans 20 cm^3 d'eau distillée qu'on additionne de 0,5 gr. de nitrate de potassium pure et du chloroforme pour éviter l'intervention de microorganismes, on laisse séjourner à l'étuve à 40°—42° pendant 24 heures. Après ce temps écoulé nous avons pu constater que:

1) Le filtrat de cette macération nitraté présente les réactions caractéristiques des nitrites (Réaction de Tromsdorff en liqueur acétique, de Griess à la métaphenylene-diamine, de Denigès à la resorcine et à l'acide sulfurique.

2) Si on ajoute du nitrate de potassium à la macération de poudre de rein préalablement bouillie, il n'y a pas formation de nitrites.

3) Ajoutons qu'on ne trouve pas les réactions d'acide azotéux dans les macérations, non nitratés de la poudre de rein.

De ces faits nous pouvons conclure à la présence d'une nitrase dans notre poudre de rein.

La nitrase réduit aussi le nitrate d'ammoniaque, et aussi le nitrobenzène en aniline. Il décolore le bleu de méthylène et paraît donner de l'aldéhyde butyrique aux dépens de l'acide butyrique.

Ces résultats nous permettent de conclure à la présence du nitrase dans notre poudre de rein.

PHILOTHION.

De Rey Pailhade (102) a signalé dans les tissus animaux un ferment, *le philotion*, capable de transformer le soufre en hydrogène sulfuré.

Cette découverte coïncidant avec la mise en évidence par Armand Gautier et par Hélier du pouvoir réducteur des tissus permettait de concevoir l'existence de réductases. Ce ferment a été signalé dans le suc de la levure, et dans l'albumen de grain de Ricinus Communis.

Mise en évidence de philotion: on introduit 2 gr. de poudre de rein dans 20 cm^3 d'eau chloroformée à 4 p. 100 dans un flacon à large col fermé par un bouchon portant à sa partie inférieure un papier à l'acétate de plomb. On additionne un peu de fleur de soufre.

Après 24 heures de séjour à l'étuve à 37°, nous avons pu constater le noircissement du papier à l'acétate de plomb indiquant l'action d' H^2S.

La poudre seule sans soufre a donné un résultat négatif.

Abelous et Ribaut (103) concluent d'autres expériences que la production de l'hydrogène sulfuré par les extraits d'organes seuls ou additionnés de soufre ne saurait être considéré comme un phénomène diastasique, parce que les matières albuminoïdes possèdent à des degrés divers le pouvoir de dégager H^2S, quand on les chauffe soit seules soit en présence de soufre.

Nous concluons donc dans nos essais que la poudre de rein renferme probablement du philothion.

(102) De Rey Pailhade, cité par Albert Morel. — Précis de technique chimique. Doin Edit. Paris 1909, p. 779.

(103) Abelous et Ribaut. C. R. juillet 103, cité par Albert Morel, l. c.

RECHERCHE DE GLUTATHION.

Ce composé joue un rôle des plus importants dans les réactions d'oxydation et de réduction de l'organisme; la partie cystine passant à l'état cystéïne et reciproquement. Ces dipéptide sulfureux a été l'objet de nombreuses recherches.

Blanchetière et Binet (104) par exemple ont fait une enquête sur la présence de Glutathion dans les différents organes du chien.

Nous avons essayé de la caractériser par la technique de Fabre (105) qui se base sur le fait que le Glutathion donne une réaction colorée avec la nitroprussiate de sodium, qui est dûe à son groupe sulfhydrile. La réaction fut très légèrement positive, *nous pouvons conclure à la présence de Glutathion en très petite quantité dans notre poudre de rein.*

---

(104) Blanchetière A., Binet L. — Sur la teneur en glutathion des divers organes du chien. C. R. Soc. Biol. 1926, XCIV, p. 494, 1227 et XCV, p. 558, 1098.

(105) Fabre. — Le Glutathion. Journ. Ph. et Ch. 1927 (8), p. 219, 245.

Conclusions.

En définitive nous avons mis en évidence la présence dans la poudre de rein étudiée: une *amylase*, une *maltase*, une *glycogenase*, une *sucrase*, une *nucléase*, une *salicase*, une *lipase*, une *phosphotase*, une *salolase*, une *péptase*, une *tryptase*, une *éréptase*, une *hippuricase*, une *péroxydase*, une *catalase*, une *nitrase* et la *glatathion*.

Nous croyons à la *présence probable:* d'une *Inulase*, d'une *émulsine* du *Philothion*.

Par contre nous *n'avons pas mis en évidence:* la *lactase* et *l'oxydase*.

Enfin nous sommes les premiers à avoir reconnu l'existence d'une *glycolase*, d'une *arbutase*, d'une *hélicase*, d'une *lécithase*, d'une *uréase*, d'une *désamidase*, d'une *arginase*, d'une *aldéhydase*.

Conclusions générales

L'ensemble de nos recherches nous conduit aux conclusions suivantes:

Dans le rein de même que dans toutes les cellules vivantes on constate la présence de matières minérales, de lipides, de ferments, de protides, de phosphatides etc... Mais ces substances s'y trouvent dans des proportions un peu différentes de celles d'autres organes.

Résumons nos résultats obtenus:

MATIERES MINERALES:

En outre des métaux comme le Sodium, Potassium, Calcium, Magnésium et Fer, dont la présence dans la poudre de rein avait été signalé avant nous, nous sommes les premiers à avoir recherché et dosé les métaux dont le rôle catalytique est important comme:

Cuivre, Nickel, Cobalt, Zinc, Titane, Manganèse, Arsenic.

Teneur en phosphore: Le phosphore a été dosé sous ses différentes formes: *Phosphore total* 1,03%, *Phosphore lipidique* 0,3131%, *Phosphore nucléïque* 0,22%.

Concentration en ion H (Ph)

Le Ph de notre échantillon de rein est 5, 6 c'est-à-dire nettement acide.

Lipides: Nous avons dosé dans la poudre de rein l'insaponifiable (Cholestérine), puis les acides gras avec la détermination de leurs *différents indices.*

Azote: L'azote a été dosé sous ses formes différentes existant dans notre poudre de rein, notamment: *azote total, azote soluble non albuminoïde, azote albuminoïde, azote ammoniacal.*

Ferments solubles: Il ressort avec évidence de nos expériences, que le rein renferme un grand nombre de ferments dont le rôle est d'une haute importance dans le métabolisme intraorganique. Certaines d'entre eux avaient déjà été signalés, mais nous sommes les premiers à avoir démontré la présence dans la poudre de rein de porc des ferments solubles suivants: *glycolase, arbutase, hélicase désamidase, arginase, uréase, aldéhydase.*

Au cours de nos recherches, certaines méthodes ou techniques utilisés pour isoler, et doser différents minéraux et organiques, nous ont paru insuffisantes et nous les avons modifiés.

Nous avons ainsi obtenu de meilleurs résultats.

Nous avons eu l'occasion au cours de ces recherches de comparer les différents procédés de destruction des matières organiques avec l'aide des différentes catalyseurs: Acide sulfurique en présence d'acide oxalique, ou d'oxalate de Potassium, ou de sulfate de cuivre, ou de sulfate de fer, ou de sulfate de Manganèse, ou de Mercure, ou de sulfate de Mercure, et au moyen de l'acide perchlorique en présence d'acide sulfurique. Parmi ces nombreux essais nous donnons la préférence au procédé de destruction par l'acide sulfurique en présence de sulfate de cuivre et de sulfate de potassium, qui nous a donné les meilleurs résultats.

Bibliographie

Cette bibliographie comporte pour chaque référence le nom de l'auteur, ou ceux des auteurs, le titre de la publication dans la langue originale, le titre du périodique souvent abrégé, et en général trois chiffres correspondant respectivement à l'année, au tome, et à la page initiale du tome.

Abelous E. et Girard E.: Sur la présence dans l'organisme d'un ferment soluble réduisant les nitrates. C. R. Acad. Sc. 1899, 129, p. 56.

Abelous et Ribaut: C. R. Juillet 1903 cité par Albert Morel, Précis de technique chimique, p. 780.

Astruc A. et Canals E.: Sur un dialyseur rotatif. Journ. Pharm. et Chim. (8) 1925. II. p. 14.

Batteli F. und Stern L.: Die Aldehydase in den Tiergeweben Biochem. Zeitschrift XXIX, 1910, p. 130.

Baldi: Arch. ital. de Biol. 1898, p. 29.

Baumé: Eléments de Pharmacie 1797, p. 77.

M. W. Beijerinck: Centralbl. f. Bact. II, Abt. 7, 33-61, 1901.

G. Bertrand: Sur l'intervention du manganèse dans les oxydations provoquées par la laccase et sur l'action oxydant des sels manganeux sur la constitution chimique des oxydases. C. R. Acad. Sc. 1897, 124, p. 1053, 1355.

— Le dosage de sucres réducteurs. Bull. Sc. Pharmacol. 1907, p. 7.

G. Bertrand et M. Javillier: Sur une méthode permettant de doser de très petites quantités de zinc. Bull. Soc. chim. de Paris, T. III; 1908, p. 115-117.

G. Bertrand et Mme Rosenblatt: Recherches et dosage de petites quantités de manganèse en particulier dans les substances organiques. Bull. Sc. Pharmacol. 1911, p. 195 et Bull. Soc. Chim. 1911, IX, p. 361.

G. Bertrand et F. Médigrecéanu: Recherches sur la présence du manganèse dans la série animale. Bull. Soc. chim. 1912, XI, p. 834 et 857 et C. R. Acad. Sc. 1912, 154, p. 1450.

G. Bertrand et P. Thomas: Guide pour les manipulations de chimie biologique 1919.

G. Bertrand et Vladesco: Rercherches sur la répartition du zinc dans l'organisme du cheval. Bull. Soc. chim. 1921, t. 29, p. 53.

G. Bertrand et Benzon: Sur l'importance du zinc dans l'alimentation des animaux. Expérience sur les souris C. R. acad. sc. 1922; t. 175, p. 289.

G. Bertrand et M. Morkagnatz: Sur une méthode permettant de séparer quantitativement d'un mélange complexe de très petites quantités de cuivre de zinc, de nickel et de cobalt. Bull. Soc. chim., t. XXXIII, p. 1539, 1923.

G. Bertrand et M. Machebœuf: Sur la présence de nickel et du Cobalt chez les végétaux et les animaux. C. R. Acad. Sc., t. 180, p. 1380, 1993, cité par Bull. Soc. chim., t. 38, p. 1365, 1925.

G. Bertrand et Mme Voronca-Spirt: Recherches sur la présence et la répartition du titane dans les plantes phanérogames et cryptogames. Bull. Soc. chim. 1929, t. 45, p. 1044, 1930, p. 102, t. 47, p. 102.

— Recherches sur la présence et la répartition de titane chez les animaux. Bull. Soc. chim., t. 47, p. 643.

L. Berger: Le rapport Ca/Mg dans quelques urines normales et pathologiques. Th. Doct. Pharm. Montpellier, 1929.

Berg: Sur une réaction des sucres à fonction aldéhyde. Bull. Soc. chim. de France 1904 (3) 31, p. 1216.

Blanchetière A.: Sur une méthode de dosage du Sodium Bull. Soc. chim. 1923, XXXIII, p. 807.

Blanchetière A. et Binet L.: Sur la teneur en glutathion en divers organes de chien. C. R. Soc. Biol. 1926, XCIV, p. 494, 1227, XCV, p. 558, 621, 1098.

Boivin A.: Nouvelle méthode microanalytique de dosage de l'urée en biologie. Th. Doct. en Médecine, Montpellier, 1926.

Bourcet: Th. Doct. Méd., Paris, 1900.

Brown-Sequard: Des effets produits chez l'homme par des injections sous-cutanées d'un liquide retiré des testicules de cobayes et de lapins. C. R. Soc. Biol. 1889, p. 415.

Brown-Sequard et d'Arsonval: De l'injection des extraits liquides provenant des glandes et des tissus de l'organisme comme méthode thérapeutique C. R. Soc. Biol. 1891, XXXXIII, p. 248, 265.

Byla P. et Penau H.: Les produits biologiques médicinaux 1921. Maloine et Fils, Edit. Paris.

Canals E. et Coulenceau P.: Quelques recherches sur les poudres d'ovaires A. F. A. S. Bordeaux 1923.

Carnot P.: Médicaments animaux. Opothérapie 1911, Baillère et Fils Edit. Paris.

Clare.: The détermination of hydrogen ions. Williams and Wilkins Edit. Baltimore 1922.

Clœtta A.: Ueber das Vorkommen von Inosit im tierischen Körper. Liebigs Annalen der Chemie und Pharmacie, 1856, IC., p. 289.

Choay E.: Des extraits opothérapiques, mode de préparation, rendement, posologie, activité diastasique. Th. Doct. Pharm. Paris 1910-11.

Codex medicamentus gallicus, 1908.

Copaux: Procédé rapide pour doser l'acide phosphorique C. R. Acad. Sc. 1921, 173, p. 656.

Coutenceau P.: Quelques recherches sur les poudres d'ovaires. Th. Doc. Pharm. Montpellier 1924.

Creissent: Considérations sur l'opothérapie. Th. Doct. Pharm. Strasbourg 1926.

Damiens A.: Sur le brome existant normalement dans les tissus animaux. Bull. Sc. Pharmacol. XXVII, p. 609, 1920, Bull. Soc. chim. Biol. III, 1921, p. 95.

Daucan G.: Contribution à l'étude de rôle physiologique du Magnésium chez les végétaux. Th. Doct. Pharm. Montpellier 1928.

Deniges et Chelle: C. R. Acad. Sc. CLV, p. 1010, 1912. Bull. Soc. Pharmacie de Bordeaux LX, p. 75, 1917.

Deniges G.: Précis de chimie analytique 1913, Malloine et Fils Edit. Paris.

Derrien E. et Fontes G.: Chimie biologique médicale 1927. Baillère et Fils, Edit. Paris.

De Rey Pailhade: Cité par Morel Albert.

Dubois R.: Sur le Cuivre normal dans la série animale. C. R. Soc. Biol. 1900, Série 11, p. 392.

Effront Jean: Les catalyseurs biochimiques dans la vie et dans l'industrie. Paris Dunod et Pinat, Edit. 1914.

Emmerling et Reiser: Cités par Effront l. c., p. 567.

Faber F.: Die kolorimetrische Bestimmung des Titans und ihre Anwendbarkeit neben Eisen. Chem. Zeitung 1907, p. 263.

Fabre R. et Penau H.: Examens chimiques généraux des poudres opothérapiques. Journ. Pharm. et Chim. (7) 1923, t. 27, p. 281.

— Sur un procédé de dialyse rapide et son application à la préparation de l'oxyde de fer dialysé. Journ. Pharm. et Chim. (8) 1926, III, p. 100.

Fabre R.: Les propriétés chimiques et physiologiques des principes endocriniens. Journ. Pharm. et Chim. (8) 1926, p. 13, 27, 114, 168.

— La glutathion. Journ. Pharm. et Chim. (8) 1927, V, p. 219, 245.

Fremy: Encyclopédie chimique IX, t. IV-VI.

Garola et Braun: Dosage pondéral de la Potasse. Ann. des falsifications 1917, p. 572.

Giaya Sinicha: Le zinc dans l'organisme humain C. R. Acad. Sc. 170, 1920, p. 906.

Goltwalt: Zeitschr. f. physiol. ch., t. IV, p. 431, cité par Frémy (Encyclopédie chim. IX), l. c.

Garnier M.: Le rôle biologique du Manganèse. Dosage du Manganèse dans les cendres de plantes Lorraines. Th. Pharm. Nancy, 1928.

Grabar P.: Microméthode de dosage de Sodium dans les milieux biologiques. Bull. Soc. chim. biol. 1929, XI, p. 58.

Grange: C. R. XXXIII, p. 627, 1851, XXXIV, p. 333, 1852.

Grigaut: Dosage colorimétrique de la cholestérine. Journ. Pharm. et Chim. 1914 (7), p. 146.

Grimbert: Journ. Pharm. et chim. (6) t. XVII, p. 225.

Grisson: Inagural-Dissertation Rostock, 1887.

Guerithault B.: Recherche sur la présence de cuivre chez les végétaux et dans l'organisme humain à l'état normal et pathologique. (cancer), thèse Doct. Pharm. Paris 1927.

Guillaumin: Sur la détermination colorimétrique de la concentration en ions H+ des liquides biologiques. Journ. Pharm. et Chim. (7) 1922, XXV, p. 175, 225.

Halliburton: Journ. of physiol. t. XIII et Jahr. f. Thiersch. 1892, t. 22, p. 26, cité par Frémy l. c.

Henriot et Camus: Sur le dosage de la lipuse. C. R. Acad. Sc. 1879, CXXIV, p. 235.

Hess Pierre: Etude Botanique, chimique et pharmacodynamique de Toddalia Aculeata. Th. Doct. en pharm. 1930, Strasbourg.

Higuchi: Biochem. Zeitschr. 17, 1909, p. 21-57.

Hirata G.: Ueber die Mengenverhältnisse der Diastase in den einzelnen Organen verschiedener Tierarten. Biochem. Zeitschr. 1910, XXVII, p. 385.

Hameno: Studien über Phosphatase Biochem. Zeitschr. 1931, 231, p. 347.

Husler J.: Vorkommen einer Glycerophosphatase in tierischen Organen. Biochem. Zeitschr. 1912, 39, p. 1.

Jadin F. et Astruc A.: Appareil producteur d'hydrogène pour la recherche de l'arsénique dans la méthode de Marsch. Journ. Pharm. et Chim. 1912, V, p. 233.

— C. R. Acad. Sc. 1912, t. 154, p. 893, t. 155, p. 291. Journ. Pharm. et Chim. 1912, t. VI, p. 529.

— La répartition du Manganèse dans le règne végétal. Journ. Pharm. et Chim. (7) 1913, VII, p. 155.

Javillier M., Allaire H. et Mlle Groc: Sur un principe nouveau pour l'essai des poudres organothérapique. Journ. Pharm. et Chim. (8), 1925, I, p. 513.

Javillier M., Allaire H. et Mme Hinglais-Croc: L'analyse des poudres organothérapiques, leur teneur en phosphore total, lipidique et nucléique. Bull. Sc. Pharmacol. 1925, 32, p. 641.

Javillier M. et Allaire H.: Sur le dosage du phosphore nucléïque dans les tissus des animaux. Bull. Soc. chim. biol. 1925, VII, p. 486.

— Sur l'existence d'un indice de phosphore nucléïque des tissus. Bull. Soc. chim. biol. 1926, VIII, p. 924.

Juschtchenko J.: Ueber den Nucleasgehalt verschiedener Organe des Menschen und der Tiere. Biochem. Zeitschrift 1911, XXXI, p. 78.

Justus: Virchows Archiv. CXC, p. 524, 1907.

Kahane E.: Le dosage du Sodium par la méthode à l'Uranyle. Bull. Soc. chim. 1930, XLVII, p. 193, 382.

Kan Kato: Ueber Fermente in Bambusschösslingen. Zeitschrift für physiol. 1911, LXXV, p. 456.

Kjehldahl: Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. Zeitschr. f. anal. chem. 22, 1883, p. 366.

Klein J. A.: Ueber das Vorkommen von Inosit im tierischen Körper. Thèse Doct. Méd. Vétér. Giessen, 1909.

Komanos: Ueber die Verdauung des Inulins und seine Verwendung beim Diabtes mellitus. Th. Doct. Méd. Strasbourg, 1875.

Kohn Abrest E.: Méthode générale des recherches et dosage d'arsénic. C. R. Acad. Sc. 1920, 171, p. 1179 à 1182.

Kossel: Maly's Jahresber., t. XI, p. 108, 1881, et t. XII, p. 102, 1882, cité par Frémy, l. c.

— Zeitschr. Physiolog. Chem. XLI, 1904, p. 321, XLII, 1904, p. 181.

Kossowicz: Cité par J. Effront, l. c., p. 567.

Kumagawa-Suto: Ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Fette. Biochem. Zeitschrift, 1908, VIII, p. 212.

Labat: Introduction à l'étude de la présence du brome dans les organes de l'homme. Th. Bordeaux, 1912, C. R. Acad. Sc. CLVI, 1913, p. 255.

Lameland M. P.: Recherches chimiques et physiologiques sur les matières grasses et les lipoïdes du sang. Bull. soc. chim. biol. 1921, III, p. 163, 1923, V, p. 111.

Laudat M.: Etude des méthodes récentes de dosage du Sodium et de leur application à la biologie. Bull. soc. chim. biol. 1928, X, p. 757.

Legrand: Annales de chimie analytique et de chimie appliquée 1921, p. 240.

Lematte L., Boinot G. et Kahané E.: Dosage des minéraux contenus dans les principaux organes utilisés en opothérapie. Journ. Pharm. et Chim. (8) 1927; V, p. 325, 361.

— La composition minérale des tissus de l'homme et des animaux. Bull. Soc. chim. biol. 1928, X, p. 553.

Lepinois E.: Etude historique, chimique et pharmacologique des principales préparations organothérapiques. Th. Doct. Pharm. Paris, 1899.

Lobstein E.: Recherches biochimiques sur le bacille tuberculeux. Th. Doct. ès-Sciences, Strasbourg, 1922.

Lœb W. et Higuchi S.: Zur Kenntnis der Placentænzyme Biochem. Zeitschr. 1909, XXII, p. 316.

Lœb W.: Beiträge zur Glycolyse, I, Biochem. Zeitschr., 1910, XXIX, p. 316.

Lœb W. et Guttman: Zur Kenntnis der Enzyme der Ovarien. Biochem. Zeitschr. 1912, 41, p. 445.

Mæda K.: Fermente der Placenta. Biochem. Zeitschr. 1923, 143, p. 361.

Maquenne L. et Demoussy E.: C. R. Acad. Sc. 170, p. 87.

— Sur une réaction très sensible du cuivre. Bull. Soc. Chim. (4) 1919, t. 25, p. 272.

— Le cuivre dans la terre et les plantes. Bull. Soc. Chim. (4) t. 27, 1920, p. 266.

Mayer A. et Schæffer G.: Recherches sur la teneur des tissus en lipoïdes. Journ. de Physiol. et Pathol. générales, 1913, CV, p. 510, 534, 775.

Meillère M. G.: Contribution à l'étude de l'Inosite. Journ. Pharm. et chim. 1906 (6), 24, p. 245.

Mestrezat M. et Mlle Paul Janet: Présence dans l'urine d'un reste azoté que ne dose pas la méthode de Kjeldahl. Bull. Soc. chim. biol. 1921, III, p. 88-94.

— L'azote titrable par la méthode de Kjeldahl. Bull. Soc. Chim. Biol. 1921, III, p. 105.

Mousseron M.: Recherches chimiques sur le Brassica Nigra et son essence. Th. Doct. en Pharm. Montpellier, 1927.

Morel Albert: Précis de technique chimique. Doin Edit. Paris 1909, p. 797.

Musculus et Von Mehring: Ueber die Umwandlung von Stärke und Glycogen durch Diastase, Pancreas, Speichel und Leber-Ferment. Zeitschrift f. Physiol. Ch. 1879, II. p. 403.

Nicloux M.: La Microanalyse organique quantitative. Bull. Soc. Chim. XXXV, p. 1041-1067.

Ogier J. et Kohn Abrest E.: Traité de chimie toxicologique, 1924, t. I.

Oppenheimer: Die Fermente und ihre Wirkungen 1913, Leipzig, p. 15.

Paderi: Bull. Soc. Méd. Chir. Pavria 1898, cité in extenso dans la thèse de M. Labat, l. c.

Pagenstecher: Das Vorkommen von Lipasen in Geweben. Biochem. Zeitschr. 1908, XIIX, p. 285.

Parnas J. et Wagner R.: Ueber die Ausführungen von Bestimmungen kleiner Stickstoffmengen nach Kjeldahl. Biochem. Zeitschr. 1921, 125, p. 253.

Portier et Bierry: Recherche sur l'influence de l'alimentation, sur les sécrétions diastasiques C. R. Soc. Biol. LIII, p. 810.

Pribram: Zeitschr. Physiol. ch. XLIX, p. 457, 1906.

Rabuteau: Gazette hebdomadaire de Médecine et de chirurgie 1868, p. 582. C. R. biol. (4) V, 1868, p. 90-91.

Richaud A.: Sur quelques points relatifs à l'histoire physiologique de l'inulin chez les animaux. C. R. Soc. Biol. 1900. VII, p. 416.

Richet: Dictionnaire de Physiologie VI, 1904.

Scagliarini G. et Pratesti P.: Méthode rapide de dosage de fer. Ann. chim. applicat. 1921, XIX, cité par Bull. Soc. chim. biol. 46, p. 1156.

Schæffer J.: Les ferments, 1929, Masson Edit. Paris.

Schmiedeberg: Ueber Oxyde und Synthese im Tierkörper. Arch. für experim. Pathol. 1881, XIV, p. 288, 379, cité par Oppenheimer, l. c.

Schibata: Cité par Effront, l. c., p. 567.

Schön: Ueber das Verhalten des Wasserstoffsuperoxyds zu Molybden- und Titansäure. Zeitschr. f. analyt. Chemie 1870. IX, p. 41, 330.

Sœrensen et Andersen: Zeitschr. für physik. Chem. 1905, 44, p. 448.

— Etudes enzymatiques C. R. du labor. de Carlsberg, 1909, VIII, livraison I.

Streng: Ueber die Ausführung einiger mikrochemischer Operationen und Reaktionen. Zeitschr. für analyt. chem. 1885, 23, p. 115 und Chem. Centralblatt 1886, p. 448.

Takenschi: Cité par Effront, l. c.

Tanaka T.: Zur Kenntnis der Milzenzyme. Biochem. Zeitschrift 37, 1911, p. 249.

Terroine E. F., Lepage G., Vehot J. et Wolff H.: La détermination des matières grasses, dans les produits végétaux. Ann. de falsification 1927, p. 793.

Treadwell F. P.: Manuel de chimie analytique 1924, Dunod Edit. Paris.

Vernon: Journ. of physiol. 32, 1904, p. 33-50.

Voit E.: Ein Beitrag zur Bestimmung des Eiweisstickstoffes, Zeitschr. für Biologie 1926, 84, p. 153.

Walton: Zeitschr. f. analyt. chem. 1871, IX, p. 41, 330.

Weber F.: Ueber eine Methode zur Bestimmung des Extraktivstickstoffes. Zeitschr. für Biologie 1926, 84, p. 169.

Weller: Recherche et dosage du titane. Ber. der chem. Gesellschaft. 1882, XV, p. 2592.

Wohlgemuth J.: Ueber eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des diastatischen Fermentes. Biochem. Zeitschr. 1908, IX, p. 1.

Yovanovitch A.: Microdosage de l'ammoniaque. Bull. soc. chim. biol. VII, 1925, p. 665.

Vu,
Strasbourg, le 12 Juillet 1932
Le Président du Jury:
E. LABORDE.

Vu et approuvé:
Strasbourg, le 13 Juillet 1932
Le Doyen de la Faculté de Pharmacie:
F. JADIN.

Vu et permis d'imprimer:
Strasbourg, le 16 Juillet 1932
Le Recteur de l'Académie,
Président du Conseil de l'Université:
DRESCH.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction 7

PREMIERE PARTIE 8

Quelques donnés générales sur le rein 8
Quelques brefs renseignements sur l'opothérapie 9
Aperçu historique 10
Principes constituants des reins 17
Teneur en Phosphore 21
1. Phosphore total 21
2. Phosphore lipidique 21
3. Phosphore nucléïque 22
4. Résultats 23
5. Commentaires et conclusions 24

DEUXIEME PARTIE 26

Détermination du P_H^+ de la poudre de rein 26
Dosage de matières minérales de la poudre de rein 30
Humidité 30
Dosage de Cendres 31
Introduction à l'étude de métaux 33
Recherches qualitatives (Analyse spéctroscopique) 40
Recherches qualitatives 40
Destruction de la matière organique 40
Destruction en milieu liquide des matières organiques 41
Dosage du Sodium 44
» » Potassium 46
» » Calcium 47
» » Magnésium 49
» » Manganèse 50
» de Fer 52
Généralités sur le Cuivre, Zinc, Nickel et Cobalt .. 53
Dosage de Cuivre, Zinc, Nickel et Cobalt 55-60
Recherche de l'Arsenic 61
Dosage de Titane 63
Métalloïdes 65
Dosage du Soufre 65
Dosage du Phosphore total 66
Dosage du Phosphore lipidique 69
Dosage du Phosphore nucléïque 70
Le dosage du Brome et recherche d'Iode 71

CONCLUSIONS 74

Dosage des lipides 75
Epuisement par l'alcool 76
Saponification de l'extrait alcoolique 77
Extraction de l'insaponifiable 78

Recherche et dosage de la cholestérine 78
Extraction et caractères des acides gras 80
Recherche des glucides 83
Recherche de l'inosite 83
Recherche et dosage de protides 84
Recherches qualitatives 85
Microdosage d'azote 88
Dosage de l'ammoniaque 91
Dosage d'azote non albuminoïde et albuminoïde .. 92
Recherches des ferments 94
Classification générale des ferments 99
Les ferments des glucides 104
Amylase 104
Maltase 108
Glycogenase 109
Recherche de Inulinase 110
Sucrase 111
Recherche de la lactase 113
Glycolase 113
Amygdalase (émulsine) 114
Salicase 115
Hélicase 116
Arbutase 116
Nucléase 117
Les ferments des lipides 118
Lipase 118
Lécithase 120
Phosphatase 121
Salolase 123
Ferments de Protides 123
Pépsine 123
Trypsine 125
Technique pour la pépsine et trypsine 126
Erépsine 127
Uréase 129
Désamidase 132
Arginase 133
Hippuricase 134
Oxydases, Péroxydases et Catalases 135
Recherche des âeroxydases 136
Hydrolase 138
Ferments réducteurs 138
Nitrase 139
Philothion 141
Recherche de glutathion 142

CONCLUSIONS 143

CONCLUSIONS GENERALES 144

BIBLIOGRAPHIE 146